مركز تعريب العلوم الصحية

هاريرز في الكيمياء الحيوية

تأليف د. روبرت موراي وآخرون

ترجمة د. عماد أبو عسلي د. يوسف بركات

مراجعة د. عماد عبد النبي



سلسلة المناهج الطبية العربية

الفصل الأول

الكيمياء الحيوية والطب

Biochemistry and Medicine

مقدمة:

علم الكيمياء الحيوية هو العلم الذي يختص بدراسة مختلف أنواع الجزيئات الموجودة في الخلية والكائنات الحية والتفاعلات الكيميائية التي تشارك فيها، والمعرفة الجيدة بهذا العلم أساسية لكل من يحاول التعمق في فهم الحياة بمختلف مظاهرها، كما أنها تؤهل طلاب الطب للخوض والتعمق في مفهوم الصحة وآلية الحفاظ عليها من جهة، وفهم آلية المرض والطرق الناجعة لمعالجته من جهة أخرى.

الكيمياء الحيوية هي كيمياء الحياة:

يُمكن تعريف الكيمياء الحيوية، منهجياً، على أنها العلم الذي يختص بالأساس الكيميائي للحياة (الكلمة اليونانية Bios تعني الحياة). وبما أن الخلية (Cell) هي الوحدة البنيوية للكائنات الحية، فإن ذلك يقودنا إلى تعريف وظيفي للكيمياء الحيوية على أنها العلم الذي يدرس المكونات الكيميائية للخلايا الحية والتفاعلات والعمليات التي تخضع لها.

انطلاقاً من هذا التعريف فإن الكيمياء الحيوية تمتد لتشمل أجزاء واسعة من علم حياة الخلية (Cell biology) وعلم البيولوجيا الجزيئية (Molecular biology) والوراثيات الجزيئية (Molecular genetics).

الهدف من الكيمياء الحيوية هو الوصف والتفسير، على الصعيد الجزيئي، لكل العمليات الكيميائية التي تجري في الخلايا الحية:

إن أهم أهداف الكيمياء الحيوية هو الفهم التام، على الصعيد الجزيئي، لكل العمليات الكيميائية المرتبطة بالخلايا الحية . ولتحقيق هذا الهدف ، فقد حاول علماء الكيمياء الحيوية عزل مختلف الجزيئات الموجودة في الخلية وتحديد بنيتها وتحليل آلية عملها، وعلى سبيل المثال فإن محاولات الكيميائيين الحيويين فهم الأساس الجزيئي للقلوصية (Contractility) التي ارتبطت في البداية بالخلية العضلية ولكن تعدتها الآن لغيرها من الخلايا ـ قد أسفرت عن عزل العديد من المركبات، البسيطة منها والمعقدة، ثم تلاها عدد من الدراسات الوظيفية البنيوية. من خلال هذه الجهود تم الكشف عن العديد من مجاهل الأساس الجزيئي للتقلص العضلي. ومن الأهداف الأخرى للكيمياء الحيوية محاولة التعرف على كيفية نشوء الحياة، هذا الموضوع الشيق الذي ما تزال معرفتنا عنه في الطور الجنيني حتى الآن.

في الحقيقة، إن مجال الكيمياء الحيوية واسع كما الحياة بحد ذاتها، وأينما وجدت الحياة نجد العمليات الكيميائية التي قام علماء الكيمياء الحيوية بدراستها في الكائنات الحية الدقيقة والنباتات والحشرات والأسماك والطيور والثدييات والإنسان. وبالرغم من أن الكيمياء الحيوية للمجموعتين الأخيرتين هي ما يهم طلاب العلوم الطبية الحيوية، فإن فهم الكيمياء الحيوية للأشكال الأقل تعقيدا من الحياة يكون في الكثير من الأحيان وثيق الصلة وبشكل مباشر بالكيمياء الحيوية للإنسان، وهذه بعض الأمثلة على ذلك: فالنظريات المعاصرة حول تنظيم فعاليات الجينات والإنزيمات في الإنسان هي نتاج للدراسات الرائدة التي أجريت على كل من عفن الخبز والجراثيم؛ وتقنية الدنا المأشوب (Recombinant DNA) هي نتاج للدراسات المجراة على الجراثيم وفيروساتها ومما ساعد على ذلك هو سرعة تكاثر هذه الكائنات وسهولة استخلاص مادتها الوراثية مما جعلها مناسبة للتحاليل والمعالجات الوراثية؛ كما أن معرفتنا الحديثة عن كيفية حدوث التحول الخبيث للخلية الإنسانية لم تكن ممكنة لولا الاعتماد على دراسة جينات الفيروسات المسببة لبعض أنواع السرطانات عند الحيوانات (الجينات الورمية الفيروسية: Viral oncogenes).

معرفة الكيمياء الحيوية أساسية لكل علوم الحياة:

تعتبر الكيمياء الحيوية للأحماض النووية الأساس في فهم العلوم الوراثية (Genetics)، وبالمقابل فإن الطرائق المستخدمة في كشف مجاهيل هذه العلوم ساعدت في إلقاء الضوءِ على العديد من خفايا عالم الكيمياء الحيوية. أما بالنسبة للفيزيولوجيا (Physiology) فهي تتداخل مع الكيمياء الحيوية بشكل شبه تام. ومن ناحية أخرى فإن علم المناعة (Immunology) يستخدم العديد من التقنيات الكيميائية الحيوية. وبالمقابل يستخدم الكيميائيون الحيويون بشكل واسع العديد من الطرائق الاختبارية المناعية. أما علم الأدوية والصيدلة (Pharmacology & Pharmacy) فيبنى على المعلومات الأساسية الكيميائية الحيوية والفيزيولوجية خاصة وأن معظم الأدوية تتأيض من خلال تفاعلات تشرف عليها الإنزيمات وأن الفهم الأمثل للتداخلات الدوائية يقوم على أسس كيميائية حيوية. والمسألة الأساسية في علم السموم (Toxicology) هي أن أذى السموم ينجم عن طريق تأثيراتها فى التفاعلات والعمليات الكيميائية الحيوية. وبالانتقال إلى الباثولوجيا (Pathology) نجد أن دراسة مواضيعه الأساسية كالالتهاب (Inflammation) والأذية الخلوية (Cell injury) والسرطان (Cancer) تعتمد على استخدام التقنيات الكيميائية الحيوية الذي يزداد باطراد. وأخيراً فإن العديد من العاملين في مجال المكروبيولوجيا (Microbiology) والحيوان (Zoology) والنبات (Botany) يستخدمون التقنيات الكيميائية الحيوية بشكل واسع. ومن الطبيعي ألا تدهشنا هذه العلاقات والتداخلات المتعددة بين الكيمياء الحيوية وبقية العلوم لأننا نعلم أن الحياة تعتمد على التفاعلات والعمليات الكيميائية الحيوية، وفي واقع الأمر فإن الحواجز القديمة التي كانت تفصل علوم الحياة قد تبددت الآن وأصبحت الكيمياء الحيوية هي اللغة المشتركة لهذه العلوم.

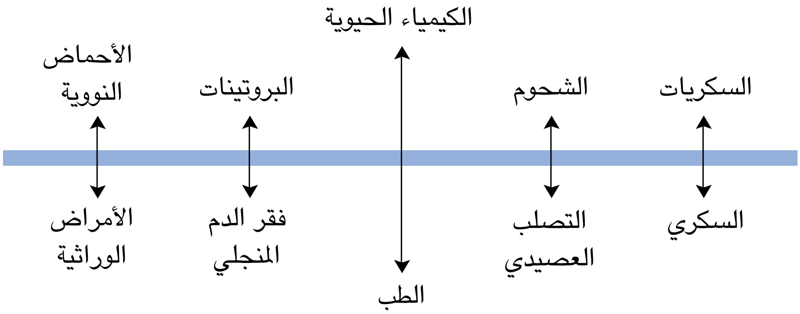
العلاقة المتبادلة بين الكيمياء الحيوية والطب ساهمت في تطويرهما :

كما ذكرنا في بداية هذا الفصل، فإن اهتمام العاملين في مجال علوم الصحة ـ وخاصة الأطباء ـ ينصب على محاولة فهم أسس الصحة وطرق الحفاظ عليها من

جهة، وفهم آلية المرض وطرق معالجته الناجعة من جهة ثانية. ولا يخفى على أحد أن الكيمياء الحيوية تخدم بشكل كبير هذين الهدفين الرئيسين لعلوم الطب. في واقع الأمر، إن الكيمياء الحيوية والطب يتأثر كل منهما بالآخر إلى أبعد حد فالدراسات الكيميائية الحيوية أوضحت عددا من المفاهيم المتعلقة بالصحة والمرض، ودراسة هذه المفاهيم فتحت مجالات جديدة في الكيمياء الحيوية. يعرض (الشكل 1-1) بعض الأمثلة عن هذه العلاقة ثنائية الاتجاه، ونذكر هنا على سبيل الاستئناس أن معرفة بنية ووظيفة البروتينات كانت ضرورية لتبيان الفرق الكيميائي الحيوي الوحيد بين الهيموجلوبين السوي وذاك الموجود في الخلايا ذات الشكل المنجلي. ومن ناحية أخرى، فإن الدراسة التحليلية لهيموجلوبين الخلايا المنجلية ساهمت إلى حد كبير في فهمنا لوظيفة وبنية الهيموجلوبين الطبيعي والبروتينات الأخرى. ويمكن استخراج أمثلة أخرى عن الفائدة المتبادلة بين الكيمياء الحيوية والطب من (الشكل 1-1).

ونسوق هنا مثالاً آخر ألا وهو الأعمال المبدعة التي قام بها في السنوات الأولى من القرن العشرين الطبيب الإنجليزي جارود (Garrod) الذي درس حالات بعض الأفراد الذين يعانون من أمراض نادرة نسبياً وأثبت أنها مرتبطة بالعوامل الوراثية وأطلق عليها تسمية الأخطاء الأيضية الخلقية (Inborn errors of metabolism). ومن هذه الأمراض نذكر البيلة الألكبتونية (Alkaptonuria) والمهق (Albinism) والبيلة السيستينية (Cystinuria) والبيلة البنتوزية (Pentosuria)، وكلها موصوفة في فصول لاحقة من هذا الكتاب. دراسات هذا الطبيب ونتائجها ساعدت على تطور مجال الوراثيات الكيميائية الحيوية.

هذه العلاقة بين الطب والكيمياء الحيوية تحمل مضامين فلسفية هامة للأول، وطالما بقي العلاج مرتكزاً على معرفتنا للكيمياء الحيوية والعلوم الأساسية الأخرى (كالفيزيولوجيا والمكروبيولوجيا والتغذية)، فسيكون لدى ممارس الطب الأساس المنطقي الذي يمكن تحديثه باستمرار ليواكب المعارف الجديدة، على العكس تماما مما هو الحال عليه في المعتقدات الصحية المشوهة القائمة غالباً على الخرافة والأفكار المُضَلَّلة بالأمنيات والمُفْتَقِدَة لأي أساس عقلاني.



الشكل 1-1 : أمثلة عن العلاقة ثنائية الاتجاه القائمة بين الكيمياء الحيوية والطب. المعلومات الكيمائية الحيوية المذكورة في الجزء العلوي من الرسم ساهمت في فهمنا للأمراض المذكورة في الجزء السفلي منه. وبالعكس فقد أضاءت دراستنا لهذه الأمراض الطريق لفهم العديد من مجاهل الكيمياء الحيوية. لاحظ أن فقر الدم المنجلي مرض وراثي وأن لكل من التصلب العصيدي والسكري مكونات وراثية أيضاً.

أساس الصحة هو العمليات الكيميائية السوية :

الصحة لا تعني غياب المرض والعجز فقط، بل أيضا السلامة التامة للحالة الفيزيائية والذهنية الاجتماعية للإنسان. هذا هو التعريف الذي اعتمدته منظمة الصحة العالمية (WHO) للصحة. أما من وجهة النظر الكيميائية الحيوية، فالصحة هي تلك الحالة التي تسير فيها آلاف التفاعلات داخل وخارج الخلوية بمعدل مساو لُمعدّلها الأقصى في الحالة الفيزيولوجية السوية للجسم. وفي حقيقة الأمر فإن هذه النظرة قاصرة إلى حد بعيد، فالعناية بصحة المريض لا تتطلب معرفة بالمبادئ البيولوجية فقط بل بالأسس النفسية والاجتماعية أيضا .

كان لأبحاث الكيمياء الحيوية تأثيرات على كل من مباحث التغذية والطب الوقائي:

إن من أهم المتطلبات الأساسية للحفاظ على الصحة هو تناول كميات محددة من

بعض المواد الكيميائية وعلى رأسها الفيتامينات وبعض الأحماض الأمينية والدهنية والعديد من المعادن والماء. ولأن الاهتمام الأساسي لكل من الكيمياء الحيوية والتغذية ينصب على دراسة كل ما يتعلق بهذه المواد الكيميائية، فالعلاقة بين هذين العلمين وطيدة جدا. علاوة على ذلك، وبما أن العالم يتجه نحو الحد من زيادة الأعباء المادية للرعاية الصحية، فهناك توجه كبير وجهود حثيثة للاعتماد على أساليب منهجية تضمن الحفاظ على الصحة ومنع حدوث المرض، وبمعنى آخر «الاعتماد على الطب الوقائي». وهكذا، تلقى البحوث الغذائية الهادفة لإيجاد أساليب تغذية تخفف من الداء السكري والتصلب العصيدي، على سبيل المثال، دعماً وتأييدا كبيرين. وغني عن البيان أن فهم أسس التغذية يعتمد إلى أبعد الحدود على معرفتنا بالكيمياء الحيوية.

لكل الأمراض أساس كيميائي حيوي:

في الحقيقة إن كل الأمراض ليست إلا عبارة عن تظاهرات لشذوذات في الجزيئات أو التفاعلات أو العمليات الكيميائية. ويلخص (الجدول 1-1) أهم العوامل المسببة للأمراض عند الإنسان والحيوانات، وكلها تؤثر في واحد أو أكثر من التفاعلات الكيميائية أو الجزيئات الهامة في الجسم . ونذكر هنا أن معظم الأمراض المذكورة في الكتاب ناجمة عن العوامل 5 و 7 و 8.

تساهم الدراسات الكيميائية الحيوية في تشخيص الأمراض وتحديد إنذارها وعلاجها :

هنا كم هائل من المنشورات التي تظهر استخدام الكيمياء الحيوية في الوقاية من الأمراض وتشخيصها ومعالجتها، وسنجد العديد من الأمثلة في ثنايا صفحات هذا الكتاب وسنكتفي هنا بعرض ملخص لسبعة أمثلة، تم ذكرها بالتفصيل في الفصول المذكورة في (الجدول 1-2)، وتبين مدى اتساع الموضوع وتثير اهتمام القراء.

(1) يجب على المرء أن يتناول مجموعة من المركبات الكيميائية العضوية المعقدة

(الڤيتامينات) لكي يبقى سليما ومعافى، فإذا نقصت كمية أحدها في الغذاء فإن التفاعلات الكيميائية التي يتدخل فيها هذا الڤيتامين سوف تضطرب. هكذا حالة تتظاهر بما يسمى أدواء العوز كما هو الحال في نقص الوارد الغذائي من الڤيتامين C الذي يتظاهر بداء البثع (Scurvy) والڤيتامين D الذي يتظاهر بداء الرخد (Rickets). لقد كان أحد اهتمامات علماء التغذية والكيمياء الحيوية منذ مطلع القرن العشرين هو إيضاح الأدوار التي تقوم بها الڤيتامينات ومشتقاتها الفعالة بيولوجياً في الخلايا الحيوانية والبشرية، وعندما يثبت أن سبب الداء هو عوز الڤيتامين يصبح من المنطقي أن نعلم أن علاجه هو إعطاء هذا الڤيتامين الناقص.

1– العوامل الفيزيائية: الرضوح الميكانيكية، الحرارة العالية جدا أو المنخفضة جدا، التغيرات المفاجئة في الضغط الجوي، الإشعاع، الصدمة الكهربائية.
2– العوامل الكيميائية: بما فيها الأدوية: بعض المواد السامة، الأدوية العلاجية... إلخ.
3 – العوامل الحيوية: الڤيروسات، الجراثيم، الفطور، الأشكال العليا من الطفيليات.
4 – نقص الأكسجين: غياب التروية الدموية، نفاد السعة الحاملة للأكسجين في الدم، تسميم إنزيمات الأكسدة.
5 – الاضطرابات الجينية: خلقية أو جزيئية.
6 – التفاعلات المناعية: التأق، الأدواء منيعة الذات.
7– فقد التواز الغذائي: عوز، زيد.
8 – فقد التوازن الهرموني: عوز أو زيد هرموني.

الجدول 1-1 : العوامل الرئيسية المسببة للأمراض. كل أسباب المرض تحدثه من خلال تأثيرها على مختلف الآليات الكيميائية الحيوية في الخلية أو في الجسم

(2) تفتقر الكثير من النباتات الأفريقية إلى واحد أو أكثر من الأحماض الأمينية الأساسية (أي الأحماض الأمينية التي يجب تناولها مع الغذاء كشرط أساسي للحفاظ على الصحة). هذه الحقيقة ساعدت في تفسير سبب معاناة الأطفال هناك من سوء التغذية (الكواشيوركور Kwashiorkor) عند اعتمادهم بشكل رئيسي على مثل هذه النباتات كمصدر رئيسي للبروتين. إن علاج هذه الحالة بالطبع هو إعطاء الأحماض الأمينية الأساسية (ولكنه غير متوفر دوماً)، وهو يتألف من تزويد الأطفال بغذاء متوازن يحتوي كل الأحماض الأمينية الأساسية.

(3) من صفات الإينكوتوتيين الذين يقطنون في جرين لاند أنهم يتناولون كميات كبيرة من زيوت الأسماك الغنية ببعض الأحماض الدهنية عديدة اللاتشبع (Polyunsaturated) وأن المستويات البلازمية للكوليستيرول عندهم منخفضة وكذلك معدل إصابتهم بالتصلب العصيدي. هذه الملاحظات قادت إلى التوجه نحو استخدام هذه الأحماض لإنقاص مستوى الكوليستيرول في البلازما. تعتبر أدواء عوز الڤيتامينات والأحماض الأمينية الأساسية أمثلة على فقد التوازن الغذائي (الجدول 1-1)، ويمكن اعتبار التصلب العصيدي مثالاً على فقد التوازن الغذائي لكن عوامل أخرى مهمة (الوراثية مثلاً) تتدخل فيه أيضاً.

(4) يمكن أن تؤدي بيلة الفينيل كيتون (Phenylketonuria)، إذا لم تعالج، إلى تخلف عقلي شديد عند الأطفال المصابين. ولقد عرف الأساس الكيميائي الحيوي لهذا الاضطراب منذ عام 1953 وهو مرض وراثي المنشأ يسببه النقص أو الغياب الكامل لنشاط الإنزيم الذي يحول الحمض الأميني «فينيل الانين» إلى الحمض الأميني «تيروزين». هذا النقص يؤدي إلى تراكم كميات كبيرة من الحمض الأول في الدم وتؤدي إلى أذية الجملة العصبية المركزية وهي في طور النمو والتطور. عندما توصلنا إلى السبب الكيميائي الحيوي لهذا الداء، أصبح من المنطقي أن نعرف العلاج ألا وهو الحمية الغذائية الخالية من الفينيل ألانين، وعندما نتوصل إلى الاختبار الذي يمكننا من تشخيص هذا الداء عند الولادة، يصبح من الواجب البدء مباشرة بالعلاج الفعال.

الداء (*)	الأسباب	الفصول
البثع (MIM 240400) والرخد	عوز الڤيتامين C و D، على التوالي	52، 53
الكواشيوركور	عوز الوارد الغذائي البروتيني	65
التصلب العصيدي	عوامل وراثية وغذائية وبيئية	28
بيلة الفينيل كيتون (MIM 261600)	ينتج بشكل رئيسي عن طفرة في المورثة المرمزة لإنزيم هيدروكسيلاز الفينيل ألانين	32
التليف الكيسي (MIM 219700)	طفرات في الجين المرمز للبروتين CFTR	65
الكوليرا	الذيفان الخارجي لضمّات الكوليرا	65
النمط الأول من الداء السكري (MIM 222100)	عوامل جينية وبيئية تسبب عوز الإنسولين	51، 65

** الأرقام بين الأقواس هي أرقام الوراثة المندلية عند الإنسان . عدم وجود مثل هذا الرقم يعني أن الحالة لم تُدرج بعد في ذاك العمل إما لأنها ليست مرضاً وراثياً أو لأنها مجرد ظاهرة مرضية (كالتصلب العصيدي) وليست داء متميزاً بحد ذاتها .*

الجدول 1-2 : بعض الأمثلة على أمراض نوقش أساسها الكيميائي الحيوي في هذا الكتاب.

(5) يعتبر التليف الكيسي (Cystic fibrosis) داء وراثياً شائعاً يصيب الغدد العرقية الناتحة وبقية الغدد خارجية الإفراز ويتميز بوجود مفرزات شديدة اللزوجة تسد القنوات المفرغة للبنكرياس والقصبات الهوائية مع ارتفاع مستوى الكلور في العرق، وغالبا ما يموت المصاب في أعمار مبكرة بسبب العداوى الرئوية. لقد تم عزل الجين المسؤول عن هذا الداء ومعرفة التسلسل الكامل لنوكليوتيداته في عام 1989، وهو، في شكله السوي، يرمز لبروتين عبر الغشاء الخلوي ويتكون من 1480 حمض أميني ويعمل كقناة للكلور ويسمى منظم النقل عبر الغشائي المرتبط بالتليف الكيسي (CFTR). إن الشذوذ الموجود في حوالي 70٪ من حالات التليف الكيسي هو عبارة عن طفرة تؤدي إلى خبن (حذف) (Deletion) ثلاثة أسس (Bases) نتروجينية من الجين مما يسبب غياب الحمض الأميني رقم 508 (الفينيل ألانين) من البروتين المذكور. وقد تمت معرفة الآلية التي من خلالها يحدث هذا الحذف خللاً في وظيفة البروتين ويسبب إنتاج المخاط الكثيف. هذا العمل الهام سيسهل كشف الأشخاص الحاملين لجين التليف الكيسي وسيقود، كما هو مأمول، إلى التوصل لعلاج أكثر فعالية مما هو متبع حالياً في معالجة هذا الداء. فعلى سبيل الاستئناس، يمكن تصميم دواء يصلح الشذوذ الموجود في البروتين عبر الغشائي أو إدخال الجين السوي إلى داخل الخلايا الرئوية بالمعالجة الجينية (Gene therapy).

تُعتبر بيلة الفينيل كيتون والتليف الكيسي أمثلة على الأدواء الوراثية (الجدول 1-1).

(6) لقد أدت دراسة آلية فعل الذيفان الجرثومي المسبب للكوليرا (Cholera) لتوصلنا إلى فهم عميق لآليات حدوث التظاهرات الإكلينيكية لهذا الداء (الإسهال الغزير وضياع الأملاح والماء).

(7) يعتبر الداء السكري من الأمراض الشائعة في أجزاء مختلفة من العالم ويتصف بشكل أساسي بشذوذ يصيب أيض الجلوكوز مؤدياً إلى ارتفاع مستوياته في الدم (فرط سكر الدم: Hyperglycemia) وقد تم التعرف على نموذجين من هذا الداء: النموذج الأول (المعتمد على الإنسولين) والنموذج الثاني (غير المعتمد على الإنسولين). والشرط الأساسي للفهم الصحيح لهذا الداء والوصول إلى طريقة

ناجعة في معالجته هو الفهم الجيد لكل من أيض الجلوكوز والتأثيرات المتعددة للإنسولين داخل جسم الإنسان.

الدراسات الكيميائية الحيوية توضح آليات المرض والأمراض توحي بإجراء المزيد من الأبحاث الكيميائية الحيوية:

لقد أدت الملاحظات الأولية التي قدمها جارود في بدايات القرن العشرين عن مجموعة صغيرة من الأخطاء الأيضية الخلقية إلى تكثيف الجهود لدراسة السبل الكيميائية الحيوية التي تتأثر في هذه الأمراض. كما أدت الجهود المبذولة لفهم أساس الداء الوراثي المسمى فرط كوليستيرول الدم العائلي (Familial hypercholesterolemia)، والذي يسبب حالات متقدمة من التصلب العصيدي في سن مبكر ، أدت إلى تطور هائل في معرفتنا عن المستقبلات الخلوية وعن آلية إدخال الكوليستيرول إلى داخل الخلية. أما الدراسات المتطورة عن الجينات الورمية (Oncogenes) فقد وجهت انتباهنا إلى الآليات الجزيئية المسؤولة عن التحكّم بالنمو السوي للخلايا.

هذه الأمثلة والعديد من الأمثلة الأخرى المحتملة تظهر بوضوح كيف أن دراسة المرض تفتح مجاهل الوظيفة الخلوية أمام الأبحاث الكيميائية الحيوية الأساسية.

سيساعد هذا الكتاب في ربط المعارف الكيميائية الحيوية مع المشاكل الإكلينيكية:

فقد عرضت في ثنايا الكتاب شروح مختصرة للآليات الكيميائية الحيوية المؤدية لحدوث العديد من الأمراض، واحتوت الفصول 63 و 64 و 65 بشكل خاص على وصف للأسس الكيميائية الحيوية لعدد من الأمراض المهمة. أما الملحق فقد ناقش باختصار بعض الاعتبارات الأساسية التي لا بد من استخدامها لتفسير نتائج الفحوص المختبرية الكيميائية الحيوية وعرض قائمة بالاختبارات الأكثر شيوعا وقيمها السوية.

والهدف الأساسي من الفصول الأخيرة من الكتاب ومن الملحق هو مساعدة القارئ وتشجيعه على ترجمة معارفه الكيميائية الحيوية والاستفادة منها في المجال الإكلينيكي.

ويختصر (الجدول 1-3) أهم استخدامات الاختبارات الكيميائية الحيوية والفحوص المختبرية في مجال الأمراض، وتتناثر في بقية فصول الكتاب أمثلة أخرى على هذه الاستخدامات.

الخلاصة:

علم الكيمياء الحيوية هو العلم الذي يختص بدراسة مختلف أنواع الجزيئات الموجودة في الخلية والكائنات الحية والتفاعلات الكيميائية التي تشارك فيها، ولأن الحياة أصلاً تعتمد على التفاعلات الكيميائية الحيوية فقد أصبحت الكيمياء الحيوية هي اللغة الأساسية لكلّ العلوم البيولوجية.

تهتم الكيمياء الحيوية بكل أشكال الحياة بدءاً من الشكل البسيط نسبياً (الڤيروسات والجراثيم) وانتهاء بالشكل المعقد لحياة الكائن البشري.

ترتبط الكيمياء الحيوية بالطب ارتباطاً وثيقاً، فالصحة تقوم على أساس التوازن المتناغم للتفاعلات الكيميائية الحيوية في الجسم، أما المرض فيعكس شذوذات في الجزيئات أو التفاعلات أو العمليات الكيميائية الحيوية.

لقد ساهم تطور الكيمياء الحيوية في كشف العديد من المجاهل في عالم الطب. وفي الجهة المقابلة، فإن دراسة الأمراض كشفت في الكثير من الأحيان عن مفاهيم لم تكن متوقعة في عالم الكيمياء الحيوية.

تعتبر الأساليب المنهجية الكيميائية الحيوية في الكثير من الحالات أساسية وضرورية لإيضاح أسباب الأمراض وتقديم العلاج المناسب لها. هذا بالإضافة إلى أن الاستخدام الصحيح لمختلف الفحوص المختبرية الكيميائية الحيوية هو إجراء رئيسي يساهم في تشخيص الأمراض ومراقبة العلاج.

تعتبر المعرفة العميقة للكيمياء الحيوية والمبادئ الأساسية الأخرى المرتبطة بها دعامة أساسية للممارسة الحكيمة للطب والعلوم الصحية الأخرى.

الاستخدام	المثال
1- إظهار الأسباب والآليات الأساسية للأمراض.	إثبات الطبيعة الوراثية لداء التليف الكيسي.
2- اقتراح المعالجات المنطقية للأمراض بالاعتماد على البند السابق.	استخدام الحمية الفقيرة بالفينيل ألانين لعلاج بيلة الفينيل كيتون.
3- المساعدة في تشخيص أمراض خاصة.	استخدام الإنزيم البلازمي كيناز الكرياتين MB (CK-MB) في تشخيص احتشاء العضلة القلبية.
4 - كاختبارات استقصائية للتشخيص المبكر لبعض الأمراض.	استخدام قياس الثيروكسين (Thyroxine) أو الهرمون المُنَبِّه للدرقية (TSH) لتشخيص قصور الدرقيّة الخلقي عند الولدان.
5- المساعدة في رصد ومراقبة ترقي المرض (رصد الشفاء أو التفاقم أو الهدأة أو النكس)	استخدام إنزيم ناقلة أمين الألانين في البلازما لمراقبة سير التهاب الكبد المُعدي.
6- المساعدة في تقييم استجابة الأمراض للعلاج.	استخدام قياس المستضد السرطاني المضغي (CEA) (carcinoembryonic Antigen) في دم بعض المرضى المعالجين من إصابتهم بسرطان القولون.

الجدول 1-3 : أهم استخدامات الاختبارات الكيميائية الحيوية والفحوص المختبرية في مجال الأمراض.

* References:

(The numbers assigned to the entries in MIM and OMIM will be cited in selected chapters of this work. Consulting this extensive collection of diseases and other relevant entries-specific proteins, enzymes, etc-will greatly expand the reader's knowledge and understanding of various topics referred to and discussed in this text. The online version is updated almost daily.

Scriver CR et al (editors) *:* The metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 7th ed. McGraw-Hill, 1995.

Williams DL, Marks V: Scientific Foundations of Biochemistry in Clinical Practice, 2nd ed. Butterworth-Heinemann, 1995.

Garrod AE: Inborn errors of metabolism. (Croonian Lectures.) *Lancet* 1908; 2:1, 73, 142, 214.

Kornberg A: Basic research: The lifeline of medicine. FASEB J 1992; 6:3143.

Kornberg A: Centenary of the birth of modern biochemistry. *FASEB J* 1997: 11:1209.

McKusick VA*:* Mendelian Inheritance in Man. Catalogs of Human *Genes & Genetic Disorders*, 12th ed. Johns Hopkins Univ Press, 1988. [Abbreviated MIM]

Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM): Center for Medical Genetics, Johns Hopkins University & National Center for Biotechnology information, National Library of Medicine, 1977.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/

الفصل الثاني

الجزيئات الحيوية والطرق الكيميائية الحيوية

Biomolecules and Biochemical Methods

مقدمة :

الغرض من هذا الفصل هو تحقيق الأهداف الخمسة التالية:

1 – الإشارة إلى تركيب الجسم والأصناف (Classes) الرئيسية للجزيئات الموجودة فيه التي تشكل المواضيع الأساسية لهذا الكتاب.

2 – إعطاء موجز مختصر عن مكونات الخلية وكيفية عزلها، على اعتبار أن الخلية هي الوحدة البنيوية والوظيفية الرئيسية للبيولوجيا وأن معظم التفاعلات الكيميائية التي تحدث في الجسم تتم داخلها. وتحتل كيفية قيام هذه المكونات بوظائفها حيزاً واسعاً من نصوص الكتاب.

3 – إظهار حقيقة كون الكيمياء الحيوية علماً تجريبياً. فمن المهم أن نفهم وندرك الطرق والأساليب التجريبية المستخدمة في الكيمياء الحيوية حتى لا تصبح دراستها مجرد جهد لا نفع منه . بالإضافة إلى ذلك، لا يمكن اعتبار الكيمياء الحيوية مجرد كتلة جامدة من المعارف، بل هي علم متطور باستمرار. ويعتمد هذا التطور ـ كما بقية المجالات الطبية الحيوية ـ على الأساليب التجريبية والابتكارات التكنولوجية.

4 – تلخيص الإنجازات الرئيسية التي تمت في مجال الكيمياء الحيوية. والنظرة الدقيقة للعلوم المقدمة في هذا النص ستساعد القارئ بمنحه القدرة على تحسس الاتجاه العام لما تبقى من نصوص أجزاء الكتاب.

5 – الإشارة إلى قلّة ما لدينا من المعلومات التي تتعلق ببعض المواضيع كالتطور والتمايز ووظيفة الدماغ والسرطان والعديد من الأمراض الأخرى التي تصيب الإنسان. ربما سيثير هذا النقص اهتمام القارئ ويدفعه للمشاركة في البحث في هذه المجالات.

يتكون الجسم البشري من عدد قليل من العناصر التي تتحد لتشكّل العديد من الجزيئات المتنوعة:

العناصر الرئيسية في الجسم هي الكربون والهيدروجين والأكسجين والنتروجين:

لقد تم تحديد التركيب الابتدائي (العنصري) (Elementary composition) للجسم البشري، ويلخص الجدول 2-1 أهم ملامح هذا التركيب.

ويدخل الكربون والأكسجين والهيدروجين والنتروجين كمكونات رئيسية لمعظم الجزيئات الحيوية ويدخل الفسفات (Phosphate) في تركيب الأحماض النووية وبعض الجزيئات الأخرى وشكلُه المُتأيّن (Ionized) واسع الانتشار في الجسم البشري، ويؤثر الكالسيوم على عدد لا يُحصى من العمليات البيولوجية ويشكل موضوعا للكثير من الأبحاث الحالية. أما العناصر المذكورة في العمود الثالث من الجدول فتقوم بوظائف عديدة ويصادف ممارس الطب معظمها بشكل يومي تقريبا عندما يتعامل مع المرضى المُصابين بفقد التوازن الكهرلي (Electrolyte imbalance) البوتاسيوم والصوديوم والكلور والمجنيزيوم) وفقر الدم الناجم عن عوز الحديد (الحديد) وأمراض الدرقية (اليود).

الجزيئات الحيوية المعقدة الرئيسية الخمسة هي الدنا (DNA) والرنا (RNA) والبروتينات وعديدات السكّاريد والشحميَات المعقدة :

تحتوي خلايا الحيوانات العليا (بما فيها الإنسان) وأنسجتها على خمسة

جزيئات حيوية معقدة أساسية (كما هو موضح في الجدول 2-2) وهي الدنا (DNA) (الحمض الريبي النووي المنزوع الأكسجين) والرنا (RNA) (الحمض النووي الرّيبي) والبروتينات وعديدات السكاريد (Polysaccharides) والشحميات المعقدة. تبنى هذه المعقدات من جزيئات حيوية بسيطة مذكورة أيضاً في (الجدول 2-2). إن وحدات البناء الأساسية للدنا (DNA) والرنا (RNA) (الأحماض النووية) هي النكليوتيدات منزوعة الأكسجين والنكليوتيدات الريبية، على التوالي. أما وحدات البناء الأساسية للبروتينات فهي الأحماض الأمينية. وتبنى عديدات السكاريد من السكريات البسيطة (الجليكوجين هو عديد السكاريد الرئيسي في الأنسجة البشرية ويبنى من الجلوكوز). وبالرغم من أن الشحميات لا تعتبر بلمرات (مكاثير) (Polymers) للأحماض الدهنية (Fatty acids)، فإنه يمكن اعتبار هذه الأخيرة كوحدات بناء أساسية لها. ويطلق على الدنا (DNA) والرنا (RNA) والبروتينات وعديدات السكاريد تسمية البلمرات الحيوية (Biopolymers) لأنها نتاج ارتباط وحداتها البنائية الأساسية التي تسمى مواحيد (Monomers).

العنصر	النسبة المئوية
الكربون	50
الأكسجين	20
الهيدروجين	10
النتروجين	8.5
الكالسيوم	4
الفسفور	2.5
البوتاسيوم	1
الكبريت	0.8
الصوديوم	0.4
الكلور	0.4
المغنيزيوم	0.1
الحديد	0.01
المنجنيز	0.001
اليود	0.00005

الجدول 2-1 : التركيب العنصري التقريبي لجسم الإنسان (على أساس الوزن الجاف).

لا شك أن هذه الجزيئات تشكل «قوام الحياة، وسيعنى هذا الكتاب بشكل واسع بوصف مختلف الخصائص الكيميائية الحيوية لها ولوحداتها البنائية. وتجدر الإشارة هنا إلى أن هذه الجزيئات المعقدة توجد أيضاً في الكائنات الحية الدنيا لكن الوحدات البنائية الأساسية قد تختلف عما هو مذكور في (الجدول 3-2)، فعلى سبيل الاستئناس نذكر هنا أن البكتريا لا تحتوي على الجليكوجين أو الجليسيرولات ثلاثية الأسيل لكنها تضم في تركيبها عديدات سكاريد ومواد شحمية أخرى.

الجزء الحيوي	الوحدة البنائية	الوظائف الرئيسية
الدنا (DNA)	النكليوتيدات منزوعة الأكسجين	مادة وراثية
الرنا (RNA)	النكليوتيدات الريبية	مرصاف لتخليق البروتينات
البروتينات	الأحماض الأمينية	عديدة، عادة هي الجزيئات التي تقوم بالعمل في الخلية (مثلاً إنزيمات أو عناصر قلوصة)
عديدات السكاريد (الجليكوجين)	الجلوكوز	تخزين الطاقة على شكل جلوكوز لفترة قصيرة
الشحميات	الأحماض الدهنية	عديدة، مثلاً تستخدم كمكونات للغشاء الخلوي أو لتخزين الطاقة على شكل جليسيرولات ثلاثية الأسيل لاستخدامها في المدى البعيد.

الجدول 2-2 : الجزيئات الحيوية العضوية المعقدة الموجودة في الخلايا والأنسجة. تسمى مركبات الدنا (DNA) والرنا (RNA) والبروتينات وعديدات السكاريد بالبلمرات الحيوية وهي مكونة من وحدات البناء الأساسية المذكورة، بينما لا تعتبر الشحميات بلمرات حيوية وليست كلها حاوية على الأحماض الدهنية كوحدات بناء.

المكونات الأساسية لجسم الإنسان هي البروتينات والدهون والسكريات والماء والمعادن:

تم عرض التركيب العنصري لجسم الإنسان آنفاً، أما التركيب الكيميائي له فهو موضح في (الجدول 2-3) وتشكل البروتينات والدهون والسكريات والماء والمعادن مكوناته الأساسية. المكون الأكبر هو الماء الذي تختلف نسبه بشكل كبير فيما بين الأنسجة وتسمح له طبيعته القطبية وقابليته لتشكيل الروابط الهيدروجينية أن يكون مناسباً بشكل مثالي للقيام بوظيفته كمُذيب (Solvent) للجسم. ويقدم الفصل الثالث تفصيلاً لخصائص الماء وميزاته.

	كجم	النسبة المئوية
بروتين	11	17.0
دهون	9	13.8
سكريات	1	1.5
ماء [1]	40	61.6
معادن	4	6.1

الجدول 2-3: التركيب الكيميائي الطبيعي لجسم رجل وزنه 65 كجم.
1– تختلف كمية الماء بشكل ملحوظ بين الأنسجة المختلفة فهي لا تتجاوز 22.5٪ في العظم عديم النقي. كما تميل النسبة المئوية لها للتناقص كلما زادت نسبة الدهون.

الخلية هي الوحدة الأساسية في البيولوجيا:

استقرت الآراء على أن الخلية هي الوحدة الأساسية للنشاط البيولوجي منذ الدراسات التي أجراها شليدن (Scheiden) وشڤان (Schwann) وغيرهما من الرواد مثل فيرشوڤ (Virchow) في القرن التاسع عشر. واستفاد العاملون في حقل الكيمياء الحيوية والبيولوجيا بعد الحرب العالمية الثانية من ثلاثة تطورات رئيسية هي زيادة تداول المجهر الإلكتروني؛ وإيجاد طريقة تسمح بتمزيق الخلية (Disruption) في ظل شروط معتدلة نسبياً تحافظ على وظيفتها؛ وزيادة توفّر المنْبَذَة الفائقة (Ultracentrifuge) المبردة ذات السرعات العالية التي تولّد قوى نابذة كافية لفصل مكونات الخلايا الممزقة بدون الإفراط في تسخينها. وقد ساهم المجهر الإلكتروني في إظهار العديد من مكونات الخلية التي لم تكن معروفة أو غير المُلاحظة سابقاً، كما ساعد تمزيق الخلية والتنبيذ الفائق على عزل هذه المُكوّنات ودراستها وتحليلها في المُختبر (In vitro).

تمتلك الخلية الكبدية للجرذ خصائص مشتركة مع العديد من الخلايا حقيقية النوى (Eukaryotic cells):

يوضح (الشكل 2-1) بنية الخلية الكبدية (Hepatocyte) للجرذ، هذه الخلية التي درست من الوجهة الكيميائية الحيوية أكثر من كل أنواع الخلايا الأخرى لكثرة توافرها نسبياً ومناسبتها للدراسات التجزيئية (Fractionation) وتنوع وظائفها. وتحتوي الخلية الكبدية على العضيات (Organelles) الرئيسية الموجودة في الخلايا حقيقية النوى (الجدول 2-4) وهي النواة والمتقدرات والشبكة الهيولية الباطنة (Endoplasmic reticulum) والريبوسومات الحرة (Free ribosomes) وجهاز جولجي واليَحلولات (الجسيمات الحالة: Lysosomes) والجسيمات البيروكسية (Peroxisomes) والغشاء البلازمي (Plasma membrane) وبعض العناصر الهيكلية الخلوية (Cytoskeletal).



الشكل 2-1 : تمثيل تخطيطي لخلية كبد الجرذ يوضح أهم العضيات.

تستخدم التقنيات الفيزيائية لتمزيق الخلية وعزل الجزيئات الخلوية والعضيات تحت الخلوية:

إن الدراسة المعمقة لوظيفة أي عضي (Organelle) تتطلب عزله بشكل نقي نسبيا وغير مختلط بالعصيات الأخرى قدر الإمكان، ويتم هذا عادة بطريقة تسمى التجزيء

تحت الخلوي (Subcellular fractionation) والتي تستلزم عموما ثلاثة إجراءات رئيسية وهي الاستخلاص (Extraction) والتجنيس (Homogenization) والتنبيذ. وقد أجريت معظم الأعمال الرائدة في هذا المجال على كبد الجرذ.

1- الاستخلاص: تتمثل الخطوة الأولى والضرورية لعزل عضي (أو جزيء) ما باستخلاصه من حيث يتوضع في الخلايا. وبما أن معظم العضيات والعديد من الجزيئات الحيوية عطوبة (Labile) وعرضة لضياع فعالياتها البيولوجية، فالاستخلاص يجب أن يتم في ظل ظروف معتدلة (تستخدم الأوساط أو المحاليل المائية وتتجنب قيم الباهاء (pH) والضغط التّناضحي (Osmotic) الحدّيّة وكذلك درجات الحرارة المرتفعة) .

وفي الواقع، تجرى معظم الإجراءات الخاصة بعزل العضيات في درجة الحرارة من 0 إلى 4 مئوية (داخل غرفة باردة أو باستخدام مواد محفوظة في الثلج مثلاً) لأن إجراء الطريقة في درجة حرارة الغرفة العادية يسمح بضياع جزء مهم من الفعالية كنتيجة لفعل مختلف الإنزيمات الهاضمة (كإنزيمات البروتياز Proteases) وإنزيمات النوكلياز (Nucleases) التي تتحرر عند تمزيق الخلايا.

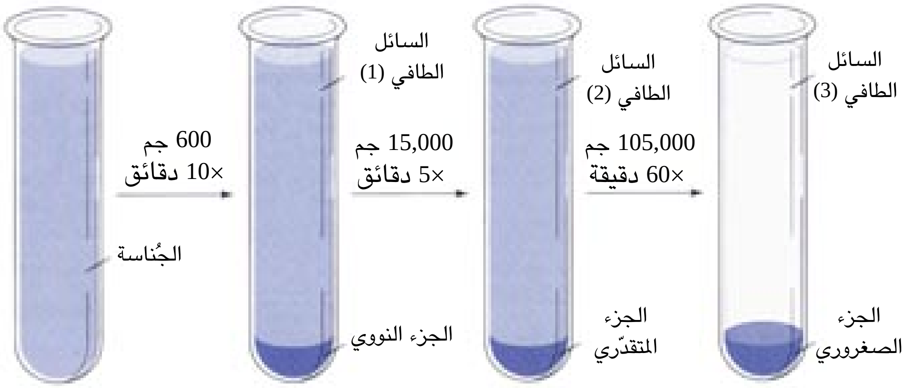
ويتكون المحلول الأكثر استخداما في استخلاص العضيات من محلول السكروز متسق الضغط التناضحي (Isosmotic) (0.25 مول/ل)، وتزاح درجة الباهاء (pH) إلى 7.4 باستخدام دارئة حمض هيدروكلوريد (Hydrochloric acid) التريس (TRIS) [ثلاثي هيدروكسي ميثيل أمينو الميثان] (0.05 مول/ل) الحاوية على أيونات البوتاسيوم والمجنيزيوم بتراكيز قريبة من مستواها الفيزيولوجي؛ واتفق على تسمية هذا المحلول بالاختصار STKM.

وليس من الضروري أن تكون كل المحاليل المستخدمة في الاستخلاص معتدلة مثل المحلول STKM، فاستخلاص الشحميّات والأحماض النووية، مثلا، يتطلب استخدام المذيبات العضوية.

2– التجنيس : إن استخلاص عضي (أو جزيء حيوي) يستلزم تمزيق الخلايا في ظل شروط معتدلة أولاً، وتستخدم عملية التجنيس لتمزيق الأعضاء (كالكبد والكلية والدماغ) ومحتواها من الخلايا. تتطلب هذه الطريقة مدقة (Pestle) تدار يدوياً أو آلياً داخل أنبوب زجاجي ذي أبعاد مناسبة توضع بداخله شرائح صغيرة من العضو المدروس تسبح في سائل التجنيس المناسب (STKM مثلاً). يولد الدوران المحكم للمدقة قوى قص ميكانيكية على الخلايا التي تتمزق وتتحرر مكوناتها في وسط السكروز، فيتكون مستعلق (Suspension) يحوي العضيات الخلوية السليمة ويسمى الجناسة (Homogenate).

3 – التنبيذ : تحتل تقنية التجزيء الدقيق لمحتويات الجناسة بالتنبيذ التفريقي (Differential centrifugation) أهمية مركزية في عالم الكيمياء الحيوية. وتجرى الطريقة التقليدية بإجراء سلسلة كونة من ثلاث مراحل متتالية من التنبيذ بسرعات تزداد تدريجيا (الشكل 2-2) وينتج عن كل منها راسب يسمى حبيبة (Pellet) وسائل طاف (Supernatant). يؤخذ الجزء الطافي من كل مرحلة ويجرى له عملية تنبيذ في المرحلة التالية، وهكذا نحصل على ثلاثة رواسب (حبيبات) والسائل الطافي الناتج من خطوة التنبيذ الأخيرة. تسمى الحبيبات الثلاث بالجزء النّووي والجزء المتقدري والجزء الصغروري (Microsomal). وبالرغم من معرفتنا بعدم النّقاء المطلق لمحتوى أي من هذه الأجزاء الثلاثة من العضيات، إلا أن استخدام كل من المجهر الإلكتروني وقياس الواصمات (Markers) الإنزيمية والكيميائية المناسبة (الدنا (DNA) والرنا (RNA) مثلاً) أثبت أن المحتوى الرئيسي لكل من هذه الأجزاء هو، على التوالي، النوى والمتقدّرات والجسيمات الصغرورية (Microsomes). ويعتبر الإنزيم أو الجزيء الحيوي واصماً بالمفهوم المذكور آنفاً عندما يكون وجوده مرتبطاً حصراً بالعضي الذي يصمه كما هو الحال بالنسبة للفسفاتاز الحمضية الموجودة في الجسيمات الحالة وللدنا (DNA) الموجود في النواة [1]. وبناء عليه يستعمل الواصم للدلالة على وجود أو غياب عضي معين أو جزء منه.

(1) – الحمض الريبي النووي منقوص الأكسجين (الدنا DNA) موجود أيضاً في المتقدرات(المترجم).



الشكل 2-2 : رسم تخطيطي يوضح طريقة فصل الأجزاء تحت الخلوية باستخدام التنبيذ التفريقي. يعرض النسيج المتجانس (الكبد) أولا للتنبيذ بسرعة منخفضة فيعطي الجزء النووي (الحاوي على النوى والخلايا غير الممزقة) والسائل الطافي الأول (1). يؤخذ هذا السائل ويخضع للتنبيذ بسرعة متوسطة فيُعطي الجزء المتقدري (يحوي المتقدرات والجسيمات الحالة (اليحلولات) والجسيمات البيروكسية (Peroxisomes) والسائل الطافي الثاني (2). ثم يوضع هذا السائل في أنبوب آخر وينبذ بسرعة عالية ليعطي الجزء الصغروري (يحتوي على خليط من الريبوسومات والشبكة الهيولية الباطنة بنوعيها الناعم والخشن) والسائل الرائق الأخير (السائل الطافي (2)) والذي يمثل تقريباً ما يسمى العصارة الخلوية (Cytosol or cell sap). يمكن عزل كل من العضيات الخلوية بشكل نقي نسبياً بإدخال التعديلات المختلفة على هذه الطريقة الأساسية.

يحتوي الجزء الصغروري (الصغرورات) على خليطٍ من الريبوسومات الحرة والشبكة الهيولية الباطنة الملساء (Smooth E.R.) والشبكة الهيولية الباطنة الخشنة (Rough E.R.) (الناجمة عن ارتباط الريبوسومات مع الشبكة الهيولية الباطنة). أما محتوى السائل الطافي الأخير فيشبه تقريبا تركيب ما يسمى عصارة الخلية (Cell sap أو Cytosol).

إن بالإمكان إدخال تعديلات على الطريقة الأساسية السابقة كاستخدام أوساط تجنيس مختلفة أو بروتوكولات أو طرق مختلفة للتنبيذ (مثال: استخدام مداريج ـ متواصلة أو متقطعة ـ من السكروز). هذه التعديلات سمحت بعزل، أقل أو أكثر نقاوة، للعصيات الموضحة في (الشكل 2-1) والمذكورة في (الجدول 2-4). وبالرغم من أن المخطط المذكور أعلاه قابل للتطبيق بشكل عام على معظم الأعضاء والخلايا، إلا أنه يجب أن يتبع بتقويم يستخدم الواصمات الإنزيمية والكيميائية والمجهر الإلكتروني حتى يمكن اعتبار الطريقة بمجملها قابلة للتقييس (Standardized).

لا يمكن تجاوز أهمية مساهمة دراسات التجزيء تحت الخلوي في تطور الكيمياء الحيوية والبيولوجيا، فقد كونت العناصر الأساسية للأساليب التجريبية (انظر لاحقاً) وكان لتطبيقاتها الفضل الأكبر في تحديد وظائف العضيات المذكورة في (الجدول 2-4). وتعتبر المعلومات المذكورة في هذا الجدول واحداً من أهم الإنجازات المهمة التي تحققت كنتيجة للأبحاث الكيميائية الحيوية.

يتكون الأسلوب التجريبي من ثلاثة مكونات أساسية :

هناك ثلاثة مكونات رئيسية للأسلوب التجريبي المتبع في الكيمياء الحيوية وهي (1) عزل الجزيئات الحيوية والعضيات الموجودة في الخلية (انظر التنبيذ)؛ (2) تحديد بنية الجزيئات الحيوية؛ (3) استخدام المحضرات المختلفة لتحليل وظائف الجزيئات الحيوية وأيضها (تخليق وتدرك).

الجدول 2-4 : العضيات داخل الخلوية الرئيسية ووظائفها. ذكرت الوظائف الرئيسية المرتبطة بكل عضي، علماً أن هناك الكثير من السبل والعمليات والتفاعلات الأخرى التي تجري في العديد من العضيات المذكورة.

العضي أو الجزء1	**الواصم (Marker)**	**الوظائف الرئيسية**
النواة	الدنا (DNA)	مقر الكروموسومات مقر تخليق الرنا (RNA) من الدنا (DNA) (النسخ: Transcripition)
المتقدرة	نازعة هيدروجين الجلوتاميك (Glutamic dehydrogenase)	حلقة حمض السيتريك (الليمون)، الفسفتة الأكسدية
الريبيوسوم 1	محتوى عال من الرنا(RNA)	مقر تخليق البروتين (ترجمة الرنا (RNA) المرسال إلى البروتين)
الشبكة الهيولية الباطنة	جلوكوز – 6– فسفاتاز	المقر الأهم لتخليق البروتينات هو الريباسات المرتبطة بالشبكة تخليق مختلفة الشحميات أكسدة العديد من المواد الأجنبية بيولوجياً (Xenobiotics) [جملة السيتوكروم P540]
اليحلول (الجسيم الحال)	الفسفاتاز الحمضية	مقد للعديد من إنزيمات الهيدرولاز (Hydrolases) التي تحفز تفاعلات التدرك
الغشاء البلازمي	فسفاتاز ثلاثي فسفات الأدينوزين المرتبطة بالصوديوم و البوتاسيوم (أتباز Atpase) (K^+ - Na^+ ATPase) 5– نوكليوتيداز (5- Nucleotidase)	نقل الجزيئات من وإلى الخلية الالتصاق والاتصال فيما بين الخلايا

الوظائف الرئيسية	الواصم (Marker)	العضي أو الجزء1
فرز البروتينات داخل الخلية تفاعلات الإرتباط بالجليكوزيل تفاعلا السلفتة (Sulfation)	ناقلة الجالاكتوزيل (Galactosyl transferanse)	جهاز جولجي
تدرك بعض الأحماض الدهنية والأمينية إنتاج بيروكسيد الهيدروجين وتدركه	الكاتالاز أكسيداز حمض اليوريك	الجسيم البيروكسي (Peroxisome)
الخبيطات (Microfilaments) والأنيبيبات (Microtubules) والخيوط المتوسطة (Intermediate filaments).	لاتوجد واصمات إنزيمية خاصة[2]	الهيكل الخلوي [1]
إنزيمات تحلل السكر (Glycolysis) وتخليق الأحماض الدهنية	نازعة هيدروجين اللاكتات	العصارة الخلوية [1]

[1]– يعرف العضي بأنه كينونة تحت خلوية محددة بغشاء ويمكن عزلها بالتنبيذ بسرعات عالية. وبهذا المعنى لا يمكن اعتبار الريبوسومات والهيكل الخلوي والعصارة الخلوية على أنّها عضيات وأدرجت في هذا الجدول مع العضيات الأخرى لأنها تعزل عادة بالتنبيذ، ويمكن اعتبارها كينونات أو أجزاء تحت خلوية. هذا ومن النادر أن يكون العضي الخلوي المعزول بواسطة عملية تنبيذ تفريقي واحدة نقياً بدرجة كافية، وتحقيق هذا يتطلب التعريض لعدة دورات من التنبيذ.

[2] – يمكن التعرف على أجزاء الهيكل الخلوي عن طريق المجهر الإلكتروني أو بترحيل البروتينات المكونة لها في الرحلان الكهربي (Electrophoresis).

1- عزل الجزيئات الحيوية:

كما هو الحال في العضيات، فإن تحديد وظيفة الجزيء الحيوي يتطلب أولاً عزله بشكل نقي. ويعرض (الجدول 2-5) قائمة بأهم الطرائق المستخدمة في عزل وتنقية الجزيئات الحيوية. ولن نذكر هنا أية تفاصيل عن أي من هذه الطرائق التي سوف يوصف بعضها باختصار في أماكن متفرقة من الكتاب. ونذكر هنا أنه لا بد من الجمع بين أكثر من طريقة من هذه الطرق واستخدامها بتعاقب معين للحصول على الشكل النقي المتجانس (Homogeneity) من الجزيء المراد عزله وغير الملوث بأي جزيء آخر. من المهم أن ندرك أن التطورات في الكيمياء الحيوية تعتمد على تطوير طُرق جديدة في التحليل والتنقية وتحديد البنية، فمفاهيم الكيمياء الحيوية للشحميات، على سبيل المثال، قلبت رأساً على عقب بعد استخدام الاستشراب الغازي السائلي (Gas-liquid chromatography) واستشراب الطبقة الرقيقة (Thin layer) كما بقي تحليل بروتينات الغشاء والعديد من البروتينات الأخرى في غاية الصعوبة حتى إدخال الرحلان الكهربي باستخدام هلامة البولي أكريلاميد سلفات دوديسيل الصوديوم (Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis) والتي يرمز لها اختصاراً بـ (SDS-PAGE)؛ حيث مكننا إدخال المنظف SDS من إذابة العديد من البروتينات مما سمح بترحيلها كهربيا، الأمر الذي لم يكن ممكناً قبل ذلك.

ومن ناحية أخرى، فقد أحدث تطوير طرق سلسلة (تحديد تسلسل الدنا) وتنسيله (DNA sequencing & cloning) ثورة حقيقية في مجال دراسة الأحماض النووية والبيولوجيا بشكل عام.

2- تحديد بنية الجزيئات الحيوية:

بعد تنقية الجزيء الحيوي يصبح من الضروري تحديد بنيته مما يسمح بتعيين العلاقات بين البنية والوظيفة. ويحتوي (الجدول 2-6) على قائمة بأهم الطرق الرئيسية المستخدمة في تحليل بنية الجزيئات الحيوية وهي مألوفة لمن كان لديه اهتمام بالكيمياء العضوية.

التجزئ بالأملاح (Salt fractionation):
(مثل الترسيب بسلفات الأمونيوم)
الاستشراب (Chromatography):
الورقي (Paper)
بتبادل الأيونات (Ion exchange) (تبادل الأنيونات والكاتيونات)
بالألفة (Affinity)
الطبقة الرقيقة
الغازي السائلي
السائلي بالضغط العالي (High- pressure liquid)
الترشيح الهلامي (Gel filtration)
الرحلان الكهربي:
الورقي
بالڤولطاج العالي (High-Voltage)
على الأجاوز (Agarose)
على أسيتات السلولوز
على هلام النشاء
على البولي أكريلاميد
على SDS البولي أكريلاميد
التنبيذ الفائق (Ultracentrifugation)

الجدول 2-5 : الطرق الرئيسية المستخدمة لفصل الجزيئات الحيوية وتنقيتها.[1]

[1] – تناسب معظم هذه الطرق تحليل مكونات الخلاصات الخلوية والمواد الكيميائية الحيوية الأخرى، ويسمح الاستخدام المتعاقب لعدّة تقنيات بتنقية معظم الجزيئات الحيوية. وإذا أراد القارئ معرفة المزيد فإن عليه الرجوع إلى الكتب المتخصصة في الطرق المستخدمة في أبحاث الكيمياء الحيوية.

إن نوعـيـة (Specificity) بعض الإنزيمات تجـعل منهـا أدوات فـاعلة تخـدم في تحديد الخصـائص البنيوية لبعض الجزيئات الكيميائية الحيوية. كما أن التطورات النظرية والتقنية سمحت بتحسينات مهمة في مجالي قياس الطيف الكتلوي (Mass Spectrometry) وتنظيــر الطّيف (Spectroscopy) بالرنين المغناطيــسي النووي. (Nuclear magnetic resonance ;NMR) جعلت منهما الخيار الروتيني المستخدم في تحديد البنية. فمع استخدام تقنية تنظير الطّيف بالرنين المغناطيسي النووي عالي الميز (High resolution) أصبح الآن بالإمكان تحديد بنيـة العديد من البروتينات والسلاسل المعقدة للغاية من السكريات والموجودة في بعض الجزيئات الحيوية كالبروتينات السكرية. ولعل معظم المعلومات المتوافرة عن بنية الجزيئات الحيوية تم جمعها باستخدام تقنيتي انعراج الأشعة السينية وتصوير البلّورات بالأشعة السينية (X-ray diffraction & crystallography) حيث كان استخدامهما أساسياً في إظهار البنية التفصيلية لبروتينات وإنزيمات مختلفة وللطبيعة الحلزونية المضاعفة للدنا (DNA).

التحليل العنصري (الابتدائي) (Elemental analysis)
تنظير الطيف بالأشعة فوق البنفسجية والمرئية وتحت الحمراء وبالرنين المغناطيسي النووي (NMR)
استخدام الحلمهة الحمضية أو القلوية كطريقة تؤدي إلى تدرك الجزيء الحيوي الخاضع للدراسة إلى مكوناته الأساسية
استخدام مجموعة من الإنزيمات معروفة النوعية كطريقة تؤدي إلى تدرك الجزيء الحيوي الخاضع للدراسة (كاستخدام إنزيمات البروتياز والنوكلياز، والجليكوزيداز)
قياس الطيف الكتلوي
طرق خاصة للسلسلة (Sequencing) كتلك المستخدمة لسلسلة البروتينات والأحماض النووية
تصوير البلورات بالأشعة السينية

الجدول 6-2 : الطرق الرئيسية المستخدمة في تحديد بنية الجزيئات الحيوية.

3 – تحليل وظيفة الجزيئات الحيوية وأيضها باستخدام مختلف المحضَرات:

لقد كانت الأبحاث الكيميائية الحيوية الأولية على الإنسان والحيوانات تجرى على مستوى الحيوان بأكمله (كدراسة التنفس ومصير المركبات المبتلعة)، واتضح للجميع بسرعة أن تركيبة الحيوان معقدة لدرجة لا تسمح معها تجارب كهذه أن تعطي إجابات دقيقة عن الكثير من الأسئلة المطروحة. وبناء عليه، فقد طورت محضرات عديدة في المختبرات تزيل الكثير من المضاعفات التي واجهتها التجارب على مستوى الحيوان بكامله.

يلخص (الجدول 2-7) مختلف نماذج المحضرات المتوافرة الآن لدراسة العمليات الكيميائية الحيوية والتي تم التوصل بواسطتها لمعظم الحقائق المقدمة في هذا الكتاب. وقد رتبت هذه المحضرات في الجدول حسب درجة تعقيدها. وكما أن للتجارب على كامل الحيوان عوائق ومصاعب، فإن لبقية المحضرات مشاكلها أيضاً. هذا بالإضافة إلى احتمال الحصول على نتائج خاطئة باستخدام الأساليب المخبرية (أخطاء بشرية) وكمثال على ذلك نذكر أن تجنيس الخلايا قد يؤدي إلى تحرير إنزيمات تستطيع القيام بهضم ولو جزئي للجزيئات الحيوية.

تستخدم العديد من الأساليب في دراسة العمليات الكيميائية الحيوية:

تهتم معظم فصول هذا الكتاب بالعمليات الكيميائية الحيوية المعقدة (كتخليق البروتينات وتقلص العضلات) بما فيها السبل الأيضية. يعرف السبيل الأيضي على أنه سلسلة من التفاعلات المحفزة بالإنزيمات والمسؤولة عن تخليق مركبات معقدة بدءاً من مركب واحد أو أكثر أو عن تدرك أحد المركبات إلى نواتجه النهائية. ويمكن الاستدلال على وجود عملية كيميائية حيوية معقدة أو سبل أيضية معينة من خلال الملاحظات التي تتكون على مستوى الحيوان ككل؛ فعلى سبيل الاستئناس، يستدل من الملاحظات المباشرة على الإنسان أن العضلات تتقلص وتفيد معرفتنا أن الجلوكوز هو مصدر الطاقة للإنسان والحيوانات الأخرى في الاستدلال على حتمية تدرك (أيض) الجلوكوز داخل الجسم كوسيلة لتحرير الطاقة الكامنة فيه. وعلى

العموم، فإن الفهم التام لكيفية أيض الجلوكوز في الخلية البشرية ـ وهو أمر ما زال بعيداً عن الكمال ـ يتطلب التحليل على مختلف المستويات.

الجدول 2-7: التسلسل الهرمي للمحضرات المستخدمة في دراسة العمليات الكيميائية الحيوية.

الطريقة	التعليقات
الدراسات على مستوى الحيوان بكامله	يمكن أن تضم ما يلي: 1- استئصال عضو ما (استئصال الكبد مثلاً) 2- تغيير نمط التغذية (صيام ـ إطعام مثلاً) 3- إعطاء دواء معين (فينوبربيتال مثلاً) 4 – إعطاء ذيفان معين (رباعي كلور الكربون مثلاً) 5 – استخدام حيوان يعاني من مرض معين (السكري مثلاً) 6 – استخدام تقنيات معقدة كتنظير الطيف بالرنين المغناطيسي النووي والتصوير المقطعي بالإصدار البوزيتروني (Positron emission tomography). غالباً ما تكون الدراسات على هذا المستوى ذات طبيعة فيزيولوجية، لكن تفسيرها قد يكون صعباً بسبب التأثيرات المتبادلة بين الأعضاء والتي يتوسطها الدوران الدموي والجملة العصبية
العضو المعزول والمروى	يعتبر الكبد والقلب والكلية من الأعضاء المناسبة لهذه الدراسة بشكل خاص تسمح هذه الطريقة بدراسة العضو معزولاً عن تأثيرات الأعضاء الأخرى والجملة العصبية يحافظ الإرواء الجيد للعضو على وظيفته لساعات عديدة على الأقل
الشرحات (Slices) النسيجية	استخدمت الشرحات الكبدية بشكل خاص تسمح هذه الطريقة بعزل الشرحة النسيجية عن بقية المؤثرات، لكن المحضرات تميل للتلف خلال ساعات قليلة بسبب قلة التزويد بالمُغذيات
استخدام الخلايا الكاملة	1- يطبق بشكل خاص على الخلايا الدموية لسهولة تنقيتها. 2 – لا يمكن للعديد من مجالات البيولوجيا الاستغناء عن استخدام الخلايا في المزارع النسيجية

الطريقة	التعليقات
الجناسة (Homogenate)	1- تؤمن محضرات خالية من الخلايا 2 - تمكننا من إضافة مركبات معينة أو إزالتها (بواسطة الديال Dialysis مثلاً) وبالتالي دراسة تأثيراتها 3 - يمكن القيام بتجزئتها بواسطة التنبيذ للحصول على العضيات الخلوية
العضيات الخلوية المعزولة	تستخدم على نطاق واسع لدراسة وظائف المتقدرات والشبكة الهيولية الباطنة والريبوسومات...إلخ.
تجزيء العضيات الخلوية	تستخدم على نطاق واسع (مثال: دراسات وظائف المتقدرات)
عزل المُستقلبات والإنزيمات ودراستها	يعتبر جزءا حيويا لا يمكن الاستغناء عنه خلال دراسة أي تفاعل أو سبيل كيميائي
تنسيل (Cloning) الجينات المرمزة للإنزيمات والبروتينات	إن عزل الجينات بعد تنسيلها يعد أمراً حيوياً بالنسبة لدراسة تفاصيل بنيتها وتنظيمها، كما يمكن أن يخدم في تحديد تتالي الأحماض الأمينية المكونة للإنزيم أو البروتين المرمز بها

يظهر (الشكل 2-3) مختلف أنواع الملاحظات والتحليلات المطلوبة للوصول إلى فهم العمليات الكيميائية الحيوية كعملية التدرك الأولي للجلوكوز بهدف توليد الطاقة (العملية التي تدعى تحلل السكر Glycolysis)؛ ويمكن عموماً تطبيق المخطط الموضح في (الشكل 2-3) على كل العمليات الكيميائية الحيوية الرئيسية المذكورة في هذا الكتاب، وهو بذلك يمثل الاستراتيجية العامة المستخدمة لإيضاح هذه العمليات ويجب أن يبقى في الذاكرة عند دراستها (تحلل السكر وأكسدة الأحماض الدهنية مثلاً) وأن يعلم القارئ أنه ليست كل النقاط المذكورة مناسبة دائماً.

ويتوجب علينا مناقشة النقاط التالية المتعلقة (بالجدول 2-7 والشكل 2-3) وهي: (1) على الرغم من احتمالات الخطأ البشري فإن فهم العملية الكيميائية الحيوية على المستوى الجزيئي يتطلب حتماً عزل كل من مكوناتها بشكل نقي وتمييزه تماماً، وسيرد العديد من الأمثلة على ذلك لاحقاً؛ (2) ومن المهم أيضاً أن تتوافر إمكانية

استنشاء (Reconstitute) العملية الخاضعة للدراسة في المختبر عن طريق إعادة التجميع (Reassembly) المنهجي لمكوناتها، وأحد تفسيرات عدم قيام هذه العملية بوظيفتها بعد إعادة تجميعها هو عدم إضافة أو عدم معرفتنا لواحد أو أكثر من هذه المكونات.

(3) إن التطورات التقنية الحديثة، كتنظير الطيف بالرنين المغناطيسي النووي (NMR) والمسح باستخدام التصوير المقطعي بالإصدار البوزيتروني (PET) سمحت بالكشف عن بعض الجزيئات الحيوية على مستوى العضو ككل وبمراقبة التغير في كمياته مع الوقت، كما أظهرت هذه التطورات إمكانية القيام بالتحاليل المعقدة لمختلف العمليات الكيميائية الحيوية في المختبرات.

(4) عندما تتوافق النتائج التي تجمعت من استخدام المستويات المختلفة للأساليب التجريبية، يصبح من المبرر القول أن تقدماً حقيقياً قد أحرز في مجال فهم العملية الحيوية الخاضعة للدراسة، أما الحصول على نتائج متعارضة فيستلزم المزيد من الاختبارات حتى التوصل إلى تفسيرات مقنعة لها.

(5) يمكن استخدام المحضرات والمستويات المختلفة المذكورة في الشكل والجدول لدراسة التغيرات التي قد تطرأ على العمليات الكيميائية الحيوية عند الحيوانات في ظل تغيرات الحالة الأيضية (صيام ـ إطعام مثلاً) أو الإصابة بمرض ما (كالسكري أو السرطان مثلاً).

(6) يمكن استخدام معظم الطرق والأساليب المشار إليها في الدراسات المجراة على الخلايا والأنسجة البشرية السليمة أو المريضة، لكن يجب التأكيد على استخدام هذه المواد وهي طازجة، كما يجب الاهتمام بشدة بالاعتبارات الأخلاقية في التعامل مع التجارب المطبقة على الإنسان.

ساهمت النظائر المشعة والثقيلة في إيضاح العمليات الكيميائية الحيوية:

لقد كان لاستخدام النظائر (Isotopes) في الكيمياء الحيوية في ثلاثينات القرن

العشرين أثر بالغ الأهمية، ولذلك فهو يستحق منا اهتماماً خاصاً؛ فقبل استخدامها كان من الصعب وسم (Tag) الجزيئات الحيوية وبالتالي متابعة مصائرها بشكل ملائم. وبقي الوضع على ذلك حتى تقديم الأعمال الرائدة في هذا المجال، وخاصة من قبل شونهايمر (Schoenheimer) وزملائه، والتي طبقت استخدام نظائر مستقرة (مثل ^{2}D و ^{15}N) ثم كشفها بواسطة قياس الطيف الكتلوي على العديد من الموضوعات الكيميائية الحيوية؛ فعلى سبيل الاستئناس، يمكن تخليق بعض الأحماض الأمينية والدهنية والسكريات الحاوية على نظائر مستقرة مناسبة ثم إعطاؤها للحيوان أو إضافتها للمحضرات في المختبر لمتابعة مصائرها الأيضية (كتحديد عمرها النصفي (Half-life) وتحولها إلى مركبات حيوية أخرى).

لقد استخدمت المركبات الموسومة بالنّظائر المستقرة المناسبة للتحري عن العديد من الأمور المتعلقة بأيض البروتينات والسكريات والشحميات؛ وأصبح واضحاً من هذه الدراسات أن الأيض عملية نشطة تخضع معها معظم المركبات الخلوية لعمليتي التخليق والتدرك بشكل مستمر وبمعدلات مختلفة بشكل ملحوظ، الأمر الذي سَمّاه شونهايمر «الطبيعة الدّيناميكية للأيض».

بعد ذلك تم إدخال استخدام النظائر المشعة (Radioactive isotopes) والأجهزة التي تسمح بقياسها وكان لذلك أهمية بالغة في الأبحاث الكيميائية الحيوية؛ ويدرج (الجدول 2-8) أسماء أهم النظائر المستقرة والمشعة المستخدمة في الجمل البيولوجية، والتي كان لاستخدامها دور جوهري في تطور مختلف مفاهيم الكيمياء الحيوية. فالاختبارات المُجراة على الجزيئات الحيوية البسيطة أو المعقدة تعتمد بشكل كبير على استخدام النظائر سواء أكان ذلك في المختبر أم على الأحياء، كما اعتمد على استخدامها بشكل كبير في التوصل للتطور الهائل الذي وصلنا إليه في مجال سلسلة (Sequencing) الأحماض النووية وقياس الكميات القليلة جدا من بعض المركبات الموجودة في الجمل البيولوجية بواسطة تقنية المقايسة المناعية الشعاعية (Radioimmunoassay).

الاستدلال على وجودِ عملية كيميائية حيوية أو سبيل أيضي وذلك من خلال الملاحظات على مستوى الحيوان ككل

↓

تحليل آليات التحكّم بها داخل الجسم الحي

↓

تحليل تأثيرات بعض الأدواء عليها
(مثل الأخطاء الأيضية الخلقية والسرطان)

↓

تبيان توضعها في عضو واحد أو أكثر

↓

تبيان توضعها في عضي خلوي واحد أو أكثر أو في أجزاء تحت خلوية

↓

إيضاح عدد التفاعلات المشاركة فيها

↓

تنقية كل من ركائزها ونواتجها وإنزيماتها وتمائمها العاملة (Cofactors) وعناصرها الأخرى

↓

تحليل آليات التحكم بها في المختبر

↓

إثبات آليات التفاعلات المشاركة بها

↓

استنشاؤها (إعادة تشكيلها)

↓

دراستها على المستوى الجيني بطُرق تقنية تأشيب الدنا (DNA)

الشكل 2-3 : مخطط يوضح الاستراتيجية العامة المستخدمة لتحليل ودراسة عملية كيميائية حيوية ما أو سبيل أيضي. ليس من الضروري استخدام الأساليب المذكورة بالترتيب نفسه الموضوعة فيه، غير أنه يمكن إيضاح الكثير من تفاصيل عملية كيميائية حيوية أو سبيل أيضي ما باستخدام هذه الأساليب. وسنجد أنه من الممكن تطبيق هذا المخطط بشكل عام على كل السبل الأيضية المدرجة في الفصول اللاحقة من هذا الكتاب.

النظائر المستقرة	النظائر المشعة
^{2}D	^{3}H
^{15}N	^{14}C
^{18}O	^{32}P
	^{35}S
	^{35}Ca
	^{125}I
	^{131}I

الجدول 2-8 : النظائر الرئيسية المستخدمة في أبحاث الكيمياء الحيوية.

لقد تم تحقيق منجزات هامة في الكيمياء الحيوية، وللعديد منها أهمية كبيرة في عالم الطب:

تلخص الفقرات التالية (والجدول 2-9) المنجزات الرئيسية التي تحققت في مجال الكيمياء الحيوية، وخاصة تلك المتعلقة بالإنسان، وسنجد أن معظم فصول هذا الكتاب ستتوسع في شرح المواضيع المذكورة هنا.

1 – تم تحديد التركيب الكيميائي للخلايا والأنسجة والجسم بشكل عام، كما تم عزل المركبات الرئيسية فيها وتحديد بنيتها.

2 – تم فهم وظائف العديد من الجزيئات الحيوية، على الأقل على المستوى العام، وستشرح لاحقاً في هذا الكتاب. كما تم إثبات وظائف المركبات الحيوية المعقدة الرئيسية في الجسم، ومن أهمها معرفتنا بأن الدنا (DNA) هو المادة الوراثية (Genetic material) وأنه ينقل المعلومات إلى نوع خاص من الرنا (RNA) يسمى الرنا المرسال (Messenger RNA “mRNA”) الذي يحدد التسلسل الخطي للأحماض الأمينية المكونة للبروتينات.

ويمكن تمثيل الطريق الذي تسلكه المعلومات القادمة من الدنا (DNA)، اتفاقاً، كما يلي:

DNA ⟵ RNA ⟵ بروتين

علماً أن هناك استثناءات نعرفها تخالف هذه الحقيقة فالمادة الوراثية لبعض الفيروسات هي الرنا (RNA) ومن الممكن في بعض الحالات أن يتم انتساخ المعلومات الموجودة في الرنا (RNA) ليخلق منها الدنا (DNA) في عملية تُسمّى الانتساخ العكسي (Reverse transcription) وتستخدم، على سبيل المثال، من قبل فيروس العوز المناعي البشري الأول ,1- (Human immunodeficiency virus -1, HIV-1) المسبب لمتلازمة العوز المناعي المكتسب أو الإيدز (AIDS).

3 – التطور في تقنية الدنا (DNA) المأشوب (Recombinant DNA technology) الذي يعد إنجازاً حيوياً ومحورياً أحدث ثورة في مجال دراسة بنية الجينات ووظائفها وفي كل مجالات العلوم البيولوجية بما فيها الطب.

4 – تم عزل العضيات الرئيسية في الخلية الحيوانية وتحديد وظائفها.

5 – تم التوصل إلى معرفة أن كل التفاعلات التي تحدث في الخلية تقريباً تحفزها الإنزيمات التي تم تنقية العديد منها ودراستها وإيضاح الخصائص العامة لآليات فعلها. ومع أن الغالبية العظمى من البروتينات ذات طبيعة بروتينية، فقد ثبت الآن أن بعض جزيئات لرنا (RNA) تملك فعالية تحفيزية حيوية أيضاً وتسمى الإنزيمات الريبية (Ribozymes).

6 – تم وصف السبل الأيضية المسؤولة عن تخليق وتدرك الجزيئات الحيوية البسيطة والمعقدة الرئيسية، ووجد أن سبيل تخليق جزيء ما يكون عموماً منفصلاً عن سبيل تدركه.

7 – تم توضيح العديد من مفاهيم تنظيم الأيض.

8 – تم التعرف على الملامح الرئيسية لطريقة حفاظ الخلية على الطاقة واستخدامها لها.

9 – تم فهم العديد من النقاط المتعلقة ببنية مختلف الأغشية الموجودة في الخلية

ووظيفتها، ووجد أنها مكونة بشكل رئيسي من البروتينات والشحميات.

10 – توفرت معلومات مهمة عن طريقة عمل الهرمونات بشكل عام.

11 – اكتشاف الأساس الكيميائي الحيوي لعدد ليس بالقليل من الأمراض.

الإنجاز	الفصول
1– تحديد بنية العديد من الجزيئات الحيوية؛ مثل البروتينات والدنا (DNA) والرنا (RNA).	2، مختلفة
2– وصف وظائف العديد من الجزيئات الحيوية، ولو جزئياً على الأقل.	مختلفة
3 – تطوير تقنية الدنا (DNA) المأشوب.	42، مختلفة
4 – عزل العضيات الخلوية الرئيسية والتحقق من وظائفها.	2 ، مختلفة
5 – تحليل بنية الإنزيمات والإنزيمات الريبية ووظائفها.	8-11 ، 39
6 – وصف السبل الاستقلابية ووظائفها.	17، مختلفة
7 – تحديد المبادئ العامة لتنظيم الأيض.	17 مختلفة
8 – تحديد المبادئ العامة للطّاقيات البيولوجية (Bioenergetics).	12 ، مختلفة
9 – التوصل إلى بنية الغشاء ووظيفته.	43
10 – إيضاح الآليات العامة لفعل الهرمونات.	44 ، مختلفة
11 – التوصل إلى الأسس الجزيئية للعديد من الأدواء.	63-65 ، مختلفة

الجدول 2-9: ملخص لأهم الإنجازات في الكيمياء الحيوية.[1]

[1] – لقد تم التوصل للعديد من هذه الإنجازات من قبل العلماء العاملين في حقل الكيمياء الحيوية وبمساهمة علماء آخرين في مجالات أخرى (كالوراثيات والبيولوجيا الجزيئية والفيزيولوجيا والكيمياء والطب..إلخ، لكن كل هذه الإنجازات تدخل في نطاق الكيمياء الحيوية طالما هي تتعامل مع الجزيئات الموجودة في الخلية الحية.

ما يزال هناك الكثير لنتعلمه:

إذا كان من المهم أن نعلم أن معظم المعلومات عن الكيمياء الحيوية قد تجمعت، فإنه من المهم أيضاً وبالقدر ذاته أن نعي أن معارفنا عن الكثير من مجالاتها لا تزال قليلة جدا، ولعل أهم مشكلتين يجب حلهما يتعلقان بإثبات الأسس الكيميائية الحيوية للتطور والتمايز وبوظائف الدماغ. وعلى الرغم من معرفتنا للطبيعة الكيميائية للمادة الوراثية، فإننا تقريباً لا نعرف شيئا عن الآليات التي تؤدي إلى توقف أو نشاط التعبير الجيني خلال مراحل تطور حقيقيات النّوى (Eukaryotes). ويعد فهم تنظيم الجينات مفتاحاً لفهمنا لكيفية تمايز الخلايا وتحولها السرطاني. وكذلك فإن معارفنا عن انقسام الخلية ونموها بشكليهما السوي والسرطاني وعن تنظيمهما لا تزال بدائية. وفي الواقع فإننا لا نعلم شيئا عن الأسس الكيميائية الحيوية للظواهر العصبية المعقدة كالوعي والذاكرة، وكذلك الحال فيما يتعلق بآليات الإفراز الخلوي (Secretion). حيث لا نعلم إلا معلومات قليلة جداً.

وعلى الرغم من وجود بعض التقدم، فلا زلنا نجهل الأسس الجزيئية لمعظم الأدواء الوراثية الرئيسية؛ وبالمقابل فالأساليب التي قدمتها لنا تقنية تأشيب الدنا (DNA) تعد بتقدم ملحوظ في هذا المجال سيتم خلال السنوات القليلة القادمة، فسوف تكتمل سلسلة المجين البشري في العام 2005 أو قبل ذلك، وسيكون للمعلومات التي سنحصل عليها من هذا المشروع العملاق تأثير كبير الأهمية على بيولوجية الإنسان والطب.

الخلاصة:

إن المكونات الرئيسية لمعظم الجزيئات الحيوية هي الكربون والأكسجين والهيدروجين والنتروجين، ويلعب الكالسيوم والفوسفور والبوتاسيوم والصوديوم والكلور والمجنيزيوم والحديد والمنجنيز واليود وعدد من العناصر الأخرى دوراً هاماً من الناحيتين البيولوجية والطبية. أما الجزيئات الرئيسية التي تدخل في تركيب الخلايا والأنسجة فهي الدنا (DNA) والرنا (RNA) والبروتينات وعديدات السكاريد والشحميات المعقدة .

الخلايا هي الوحدات الأساسية للنشاط البيولوجي وتحتوي على عدد من العضيات التي تقوم بالعديد من الوظائف المتخصصة. يمكن فصل هذه العضيات بالتّجزيء تحت الخلوي وقد تمت دراسة وظائفها بالتفصيل.

اعتمد تطور الكيمياء الحيوية على عزل الجزيئات الحيوية الخلوية وتحديد بنيتها وتحليل وظائفها وأيضها. وتستخدم لذلك العديد من الأساليب التجريبية التي تتراوح بين الدراسة على مستوى الحيوان ككل والدراسة على مستوى الجين المعزول، وقد كان لاستخدام النظائر بنوعيها المستقر والمشع ـ على وجه الخصوص ـ أثر كبير على تقدم الكيمياء الحيوية.

يلخص التمثيل التالي نتيجة للكم الهائل من الجهود المعاصرة التي بذلت في مجال الكيمياء الحيوية:

DNA ——انتساخ——► RNA ——ترجمة——► بروتين

لكن العديد من التطورات الأخرى طرأت على الكيمياء الحيوية كتحديد تركيب الجسم والفهم الجزئي لبنية الإنزيمات والهرمونات والأغشية ووظائفها. وقد تم اكتشاف الأسس الكيميائية الحيوية والوراثية للعديد من الأدواء وتسارع التّطوير في هذا المجال كنتيجة للتطبيقات الحديثة لتقنية تأشيب الدنا (DNA).

على العموم، يبقى الكثير الذي لا نعلمه وعلينا، في المستقبل، مواجهة التحديات الرئيسية المتمثلة برسم خريطة المجين البشري وإيجاد تفسيرات جزيئية لآليات حدوث التطور والتمايز ووظيفة الدماغ.

*** References:**

Freifelder D: Physical Biochemistry: *Applications to Biochemistry & molecular Biology*. Freeman, 1982.

Fruton JS: *Molecules & Life; Historical Essays on the Interplay of Chemistry & Biology*. Wiely-Interscience, 1972.

Green ED, Cox DR, Myers RM: The human genome project and its impact on the study of human disease. In: Scriver CR et al (editors): *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th d. McGraw-Hill, 1995.

Ninja AJ, Ballou DP: *Fundamental Laboratory Approaches for Biochemistry & Biotechnology*. Fitzgerald Science Press., 1998.

Radda GK: Control, bioenergetics, and adaptation in health and disease: Non-invasive biochemistry from nuclear magnetic resonance. FASEB J 1992;6:3032.

Watson JD et al: *Recombinant DNA*, 2nd ed. Scientific American Books, 1992.

Wilson K, Walker J: *Principles and Techniques of Practical Biochemistry*, 4th ed. Cambridge Univ. Press, 1994.

الفصل الثالث

الماء والباهاء (pH)

Water and pH

مقدمة:

يركز هذا الفصل بشكل رئيسي على خصائص الماء متضمناً مفاهيم درجة الباهاء (pH) وقوة الحمض (Acid strength) كما يعرض للروابط والقوى اللاتساهمية (Noncovalent) والروابط الكهربية الراكدة أو الساكنة (Electrostatic) والتآثرات الكارهة للماء (Hydrophobic interactions) وقوى فان در ڤالس (van der Waals forces) التي تقوم ـ بالتعاون مع الروابط التساهمية والهيدروجينية ـ بأدوار حيوية تساهم في الحفاظ على البنية الجزيئية. تتوضع الجزيئات القطبية (Polar) المرتبطة بالخلايا الحية بشكل أساسي في وسط مائي وتجري تفاعلاتها فيه.

ويعتبر الماء أساسياً للحياة فهو يقوم بإذابة الجزيئات الحيوية كالأحماض النووية والبروتينات والسكريات وتعديل خصائصها عن طريق تشكيل روابط هيدروجينية مع مجموعاتها الوظيفية القطبية. تعدل هذه التآثرات من خصائص الجزيئات الحيوية وهيئاتها (Conformations) في المحلول مما يمنحها بعض الخصائص الضرورية للتوافق مع الحياة. كما تقوم الجزيئات الحيوية، حتى اللاقطبية منها (كالشحميات)، بتغييرات في خصائص الماء. كما أن فهمنا لآليات الاستتباب التي تحافظ من خلالها الكائنات الحية على بيئة داخل خلوية ثابتة نسبياً يجب أن يتضمن دراسة الباهاء (pH) ومفهوم الدّرء (Buffering) الموجود في سوائل الجسم والأحياز (Compartments) الخلوية.

وأخيراً، يعد سلوك تفارق (Dissociation) المجموعات الوظيفية للجزيئات الحيوية في الوسط المائي وفي مختلف قيم الباهاء (pH) أساسياً لفهم تفاعلاتها وخصائصها سواء داخل الخلايا الحية أو في المختبرات.

الأهمية الطبية البيولوجية:

يشكل الماء المنتج النهائي للأيض التأكسدي لكل المواد الغذائية، كما يخدم، بوصفه أليفاً ممتازاً للنواة (Nucleophile)، كمتفاعل أو ناتج للعديد من التفاعلات الأيضية. كما تنشأ المقرات الفعالة للإنزيمات بحيث تطرد الماء خارجها أو تعمل على إدخاله إليها حسب كونه متفاعلاً أم لا.

يتضمن الاستتباب (Homeostasis) (أو الحفاظ على تركيب البيئة الداخلية الذي يعتبر أساسياً للصحة) اعتبارات تتعلق بتوزيع الماء في الجسم والحفاظ على درجة حموضة وتراكيز مناسبة للكهارل (Electrolytes)؛ ويشكل الماء الموجود في السائل داخل الخلوي (Intracellular fluid) ثلثي الماء الموجود في الجسم ويعادل هذا الأخير نسبة 55-65 ٪ من وزن الجسم عند الرجال وأقل من ذلك بنحو 10٪ عند النساء) بينما يشكل الماء الموجود في البلازما 25٪ مما تبقى من الماء في الجسم والموجود فيما يسمى السائل خارج الخلوي (Extracellular fluid).

يعتمد تنظيم توازن الماء على آليات وطائية (Hypothalamic) تتحكم بالعطش وعلى الهرمون المضاد لإدرار البول (Antidiuretic hormone "ADH") وعلى احتباس أو إفراغ الماء من قبل الكليتين وضياعه عن طريق التبخر خلال التنفس والعرق، وغالباً ما يترافق نقص أو زيد (فرط Excess) الماء في الجسم ـ وهي حالات شائعة ـ بنقص أو زيد الصوديوم. ويمكن أن ينجم نقص الماء في الجسم عن نقص الوارد في (الغيبوبة مثلاً) أو زيادة معدل فقده من الجسم (كالعرق الشديد أو ضياعه عن طريق الكلى في الداء السكري أو الإسهال عند الأطفال أو الكوليرا)؛ أما زيد ماء الجسم فقد ينجم عن زيادة الوارد منه (كالإعطاء المفرط للسوائل الوريدية) أو زيادة إفراغه (كحالات الفشل الكلوي المتقدمة). وتقوم آليات تناضحية (Osmotic) ولاتناضحية بالحفاظ على الاستتباب المائي والتناضحي للسائل خارج

الخلوي، فهناك استجابتان مختلفتان تحققان هذا الغرض يتمثلان بالاحتفاظ بالماء عن طريق منع الإدرار وباكتساب المزيد منه عن طريق الشرب، وتكفي زيادة في أسمولية السائل خارج الخلوي لا تتجاوز 2٪ من قيمتها الطبيعية لتثير إحساس العطش وتحرض إفراز الهرمون المضاد لإدرار البول (ADH)، كما أن هناك آليات لاتناضحية أقلّ حساسية تقوم بالتحريض على تحرير هذا الهرمون وإثارة إحساس العطش عندما ينقص حجم السائل خارج الخلوي بنسبة 10 ٪. ونذكر هنا أن هناك مرضاً وراثياً يتصف بالعطش الشديد وتناول كميات كبيرة من الماء وعدم القدرة على تركيز البول أو الاستجابة للتغيرات الخفيفة الحادة في أسمولية السائل خارج الخلوي؛ يسمى هذا الداء بالبوالة التفهة الكلويّة المنشأ (nephrogenic diabetes insipidus) وينجم عن عدم قدرة مستقبلات الهرمون ADH التناضحية في النبيبات الكلوية على الاستجابة للهرمون المضاد للإدرار (ADH).

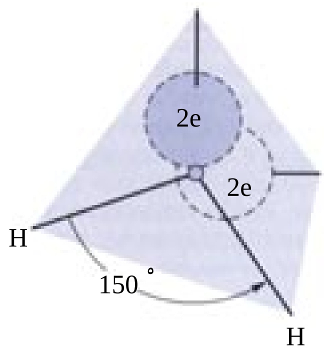
ومن ناحية أخرى، يعد الحفاظ على درجة حموضة السائل خارج الخلوي في المجال 7.35 - 7.45 أساسيا للحفاظ على الصحة، وتلعب جملة البيكربونات (Bicarbonate system) الدور الأساسي في هذا المضمار. وتشخص اضطرابات التوازن الحمضي القاعدي (Acid-base balance) في المختبرات السريرية بواسطة قياس درجة باهاء (pH) الدم الشرياني ومحتوى الدم الوريدي من غاز ثاني أكسيد الكربون (CO_2).

يعتبر الحماض الكيتوني السكري والحماض اللاكتيكي (اللبني) (Lactic acidosis) من أسباب الحماض (Acidosis) الذي يعرف بأنه انخفاض باهاء (pH) الدم إلى أقل من 7.35، أما أسباب القلاء (Alkalosis) (باهاء (pH) الدم أكبر من 7.45) فمنها قيء محتويات المعدة الحمضية أو المعالجة ببعض المدرات. هذا ويعتمد التشخيص الصحيح والمعالجة الناجعة لانعدام التوازن المائي واضطرابات التوازن الحمضي القاعدي على مجموعة من المفاهيم المذكورة في هذا الفصل.

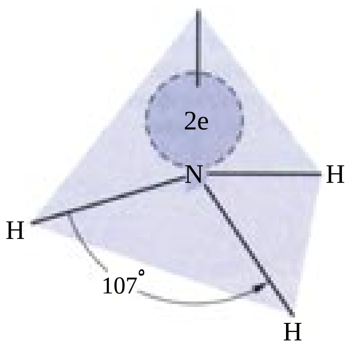
يعتبر الماء مذيباً بيولوجياً مثالياً:

الشكل الفراغي لجزيء الماء هو رباعي سطوح منحرف قليلاً:

تتمثل بنية جزيء الماء ثلاثية الأبعاد كما هو موضح في (الشكل 3-1) برباعي سطوح غير منتظم تقع ذرة الأكسجين في مركزه وتتجه الرابطتان بين الأكسجين والهيدروجين نحو زاويتين من زوايا رباعي السطوح، بينما تشغل الإلكترونات غير المشاركة بالروابط (والموجودة على المدارين الهجينين sp^3 لذرة الأكسجين) الزاويتين الباقيتين. أما الزاوية بين ذرتي الهيدروجين (105 درجة) فهي أصغر بقليل من زاوية رباعي السطوح النظامية (109.5 درجة)، مما يؤدي إلى انحراف خفيف في رباعي السطوح. ويعد جزيء النشادر (الأمونيا) من الجزيئات المشابهة للماء حيث أنه يشكل أيضاً رباعي سطوح منحرف لكن زوايا الروابط مع الهيدروجين (107 درجة) فيه تقترب من زاوية رباعي السطوح النظامي أكثر مما هو الحال عليه في الماء (الشكل 3-2).



الشكل 3-1 : للماء بنية فراغية رباعية السطوح.



الشكل 3-2 : البنية رباعية السطوح للأمونيا.

تشكل جزيئات الماء أقطاباً مزدوجة:

إن أهم نتيجة للبنية الرباعية السطوح المائلة لجزيء الماء هي توزع الشحنة الكهربية حوله بشكل غير متساو، حيث تكون جهة الأكسجين المقابلة لذرتي الهيدروجين غنية نسبياً بالإلكترونات (سالبة)، بينما تشكل نواتا ذرتي الهيدروجين المكشوفتين (غير المحاطتين بالإلكترونات) منطقة ذات شحنة موجبة موضعية في الجهة المقابلة. ويعبر مصطلح ثنائي القطب (Dipole) عن مجموعة من الجزيئات المشابهة للماء التي تمتلك شحنة كهربائية (إلكترونات) موزعة بشكل غير متساو حول بنيتها. وبناء على هذا التعريف، يعتبر النشادر جزيئاً قطبياً كما هو حال العديد من المركبات الكيميائية الحيوية الأخرى كالكحول والشحميات الفسفورية والأحماض الأمينية والنووية.

تساهم قوى عديدة في استقرار الجزيئات البيولوجية:

تعتبر الروابط التساهمية أقوى عامل رابط يساهم في الحفاظ على بنية الجزيئات، وتتراوح الطاقة الكامنة فيها بين 30 وحتى أكثر من 150 كيلو كالوري/مول (الجدول 3-1). كما تساهم أنماط إضافية أخرى من الروابط داخل الجزيئات تتراوح طاقتها الكامنة بين 0.1 و 10 كيلو كالوري/مول) في استقرار بنى الجزيئات البيولوجية. تتوضع هذه الروابط غير التساهمية بأعداد كبيرة في الجزيئات البيولوجية، وبذلك تساهم ـ رغم ضعفها ـ بشكل هام في بنية الجزيئات واستقرارها ووظائفها.

تشكل جزيئات الماء روابط هيدروجينية:

تسمح الروابط الهيدروجينية للماء بأن يشكل جزيئات كبيرة:

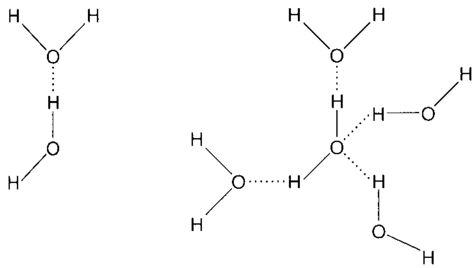
يكتسب الماء السائل، كما هو حال الجليد، بنية الجزيئات الكبيرة، وينجم هذا عن قدرة جزيئات الماء ثنائية القطب على الاتحاد فيما بينها في حالتيها السائلة والصلبة، حيث تشكل التآثرات الكهربية الراكدة (الساكنة) بين ذرة هيدروجين من

أحد جزيئات الماء ثنائية القطب وزوج إلكتروني غير مشارك (بالروابط) من جزيء قطبي آخر من الماء ما يسمى بالرابطة الهيدروجينية (Hydrogen bond)، وتسمح مجموعة الروابط الهيدروجينية المشكلة بين جزيئات الماء القطبية باتحادها بشكل مرتب تماماً. يتطلب تشكيل الرابطة الهيدروجينية وجود معط ومستقبل للهيدروجين مع ملاحظة أن جزيئات الماء السائل تستطيع أن تلعب الدورين معاً أي معط ومستقبل لذرات الهيدروجين) (الشكل 3-3). وتكون الروابط الهيدروجينية المتشكلة بين جزيئات الماء في الحالة السائلة روابط عابرة (حيث يبلغ العمر النصفي لاتحاد وانفصال جزيئات الماء حوالي 1 مكرو ثانية). وفي الحالة الصلبة، يرتبط كل جزيء ماء مع أربعة جزيئات أخرى، أما في الحالة السائلة، فينقص هذا الرقم قليلاً (3.5 تقريباً). وإذا استثنينا الطبيعة المؤقتة للتآثرات ثنائية القطب في الماء السائل، فإنه يشبه الجليد أكثر مما يمكن أن يتخيله المرء.

نمط الرابطة	الطاقة (كيلوكالوري/مول)	نمط الرابطة	الطاقة (كيلوكالوري/مول)
O-O	34	O=O	96
S-S	51	C-H	99
C-N	70	C==S	108
S-H	81	O-H	110
C-C	82	C==C	147
C-O	84	C==N	147
N-H	94	C==O	164

الجدول 3-1 : طاقة الروابط بين الذرات المهمة بيولوجياً.

تعتبر الروابط الهيدروجينية ضعيفة إذا ما قورنت بالروابط التساهمية، حيث أن كسر الأولى في الماء يتطلب حوالي 4.5 كيلو كالوري/ مول فقط وهو أقل من 5٪ مما يتطلبه كسر الرابطة بين ذرتي الأكسجين والهيدروجين في جزيء الماء 110 كيلو كالوري/ مول).



الشكل 3-3 : تتحد جزيئات الماء القطبية مع بعضها بعضاً في المحلول
في الأيسر: ارتباط جزيئين من الماء ثنائيي القطب. ويمثل الخط المنقط الرابطة الهيدروجينية. لاحظ أن أيّاً من جزيئات الماء يستطيع القيام بدور المانح للهيدروجين أو المتقبل له أو كليهما في الوقت نفسه.
في الأيمن: ارتباط جزيء ماء مركزي مع 4 جزيئات ماء أخرى بواسطة الروابط الهيدروجينية؛ وهذه هي البنية النموذجية للجليد وبدرجة أقل للماء السائل.

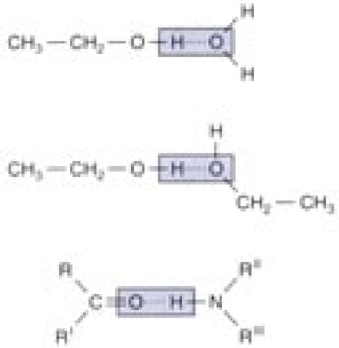
تحافظ الروابط الهيدروجينية على استقرار بنية البروتينات والأحماض النووية :

عند المقارنة بين الماء (وزنه الجزيئي 18) والميثان (وزنه الجزيئي 16) والنشادر (وزنه الجزيئي17)، نجد أن الأول يكون سائلاً في درجة حرارة الغرفة بينما يكون المركبان الآخران في الحالة الغازية؛ فما السبب في ذلك؟ يكمن الجواب ببساطة في قدرة الماء على تشكيل الروابط الهيدروجينية التي تعطيه أيضاً لزوجة وتوترا سطحياً مرتفعين نسبياً.

وتعتبر الخاصية القطبية للماء وقدرته على تشكيل الروابط الهيدروجينية هما

المسؤولتان عن قدرته على إذابة العديد من المركبات العضوية، فالمركبات التي يمكنها تشكيل روابط هيدروجينية مع الماء هي أصلا مذابة وتزداد ذوبانيتها (Solubility) في الماء (ومن الأمثلة عليها نذكر المركبات الهيدروكسيلية ـ (OH) والسلفهيدريلية ـ (SH) والأمينات والإسترات والألدهيدات والكيتونات)؛ كما يمكن للجزيئات الكبيرة التي تستقر بنيتها بمساهمة الروابط الهيدروجينية بين مكوناتها أن تستبدل ما هو موجود على سطحها من هذه الروابط بروابط هيدروجينية تشكلها مع جزيئات الماء التي تغلف طبقات من البروتينات المذابة وتعزز من ذوبانيتها.

إن للطبيعة ثنائية القطب للماء تأثيراً عميقاً على تآثراته (Interactions) مع الجزيئات الحيوية حيث تحدث تآثرات عديدة بين شحنات الماء والزمر القطبية للجزيئات الحيوية في الوسط المائي للخلايا الحية. ومن الأمثلة على ذلك نذكر أن الدنا (DNA) يتطوى (Fold) بحيث تنكشف زمره السكرية والفسفاتية القطبية على جزيئات الماء، كما تتوضع الثمالات القطبية المكونة للبروتينات بشكل رئيسي على سطح هذا المكثور (البلمر) الحيوي (Biopolymer) لتساهم في تآثراته الواسعة مع جزيئات الماء. ويوضح (الشكل 3-4) تشكل الروابط الهيدروجينية بين الماء والزمر الوظيفية للجزيئات الحيوية. وتجدر هنا ملاحظة أن الكحول هو أيضاً كالماء ثنائي القطب ويمكن أن يخدم كمستقبل ومعط للهيدروجين ليشكل روابط هيدروجينية مع الماء أو الكحولات أو الجزيئات الحيوية الأُخرى، بينما تكتفي ذرات أكسجين الكيتونات والإسترات بالعمل فقط كمستقبلات للهيدروجين.



الشكل 3-4 :
تساهم المجموعات القطبية الأخرى في تشكيل الروابط الهيدروجينية. وتبدو في الرسم الروابط الهيدروجينية المتشكّلة بين الكحول والماء، وبين جزيئين من الإيثانول، وبين أكسجين مجموعة الكربونيل في ببتيد ما والهيدروجين المرتبط مع نتروجين ببتيد مجاور له.

تساهم قوى لاتساهمية أخرى في الحفاظ على استقرار بنية الجزيئات الحيوية:

التآثرات الكهربية الراكدة الساكنة):

يمكن تسمية التآثرات الكهربية الساكنة (Electrostatic interactions) باسم الجسور أو الارتباطات الملحة عندما تحدث بين المجموعات الكيميائية المتعاكسة في الشحنة والموجودة في البروتينات، ويمكن لكلا نوعي هذه التآثرات (التجاذبية (Attractive) والتنافرية (Repulsive)) أن يساهما في بنية الجزيئات الكبيرة؛ وبالرغم من تعلق قوتها بالمذيب (والماء يضعف من هذه القوة)، فهي فعالة على مسافات أبعد من تلك التي تبديها الروابط الهيدروجينية، وهي تساهم أيضاً في ربط جزيئات أخرى بالبروتينات كما هو الحال في ربط الجزيئات بالمواقع الفعالة للإنزيمات. تتناسب قوة التآثر بين الأيونات أو المركبات ثنائية القطب عكساً مع ثابتة مخلل الكهرباء (Dielectric constant) للوسط الذي يحيط بها. قيمة هذه الثابتة في الماء هي 78.5، وهي أكبر بكثير من قيمها في مذيبات أخرى كالإيثانول (24.3) أو الإثير ثنائي الإيثيل (4.3) أو الهكسان (1.9).

فالماء، إذن، ينقص قوى التجاذب بالمقارنة مع الأوساط التي تكون فيها قيمة ثابتة مخلل الكهرباء أقل كما هو الحال في داخل البروتينات لا قطبي، وفي الطبقة الشحمية المضاعفة. وهكذا نجد أنّ زيادة طاقة التجاذب في باطن البروتينات تعكس انخفاض ثابتة مخلل الكهرباء في المناطق التي لا يطالها الماء.

التآثرات الكارهة للماء:

تتضمن التآثرات اللاتساهمية الضعيفة الأخرى التي تساهم في استقرار البلمرات الحيوية (Biopolymers) كلاً من التآثرات الكارهة للماء (Hydrophobic) وقوى فان در ڤالس (van der Waals).

ويستخدم التعبير الأول للدلالة على الترابط الذاتي (Self-association) للمركبات اللاقطبية في الوسط المائي الذي لا ينشأ عن تجاذبها المتبادل ولا عما يسمى أحياناً

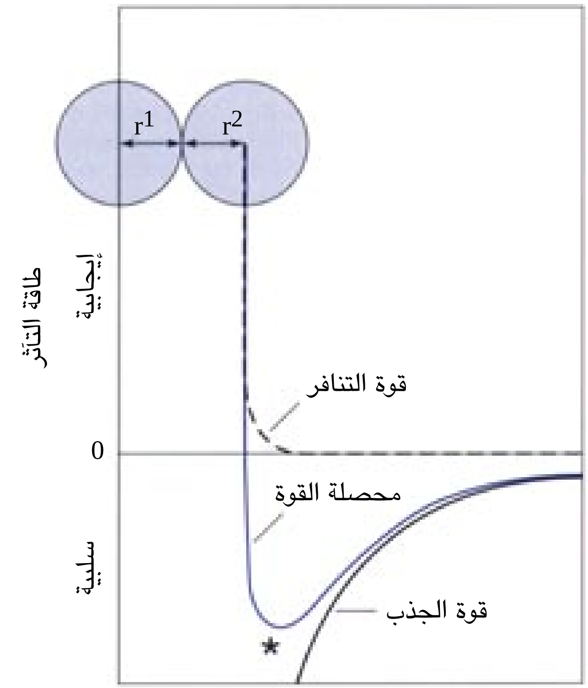
خطأً «الروابط الكارهة للماء»، وإنما هو نتيجة لميل جزيئات الماء إلى تشكيل روابط هيدروجينية فيما بينها ولتخلخل هذه الروابط كنتيجة لوجود الجزيئات غير القطبية. ويفرض التنظيم الموجه بالاعتلاج (Entropy) (الطاقة غير المتاحة للعمل) على هكذا جزيئات أن تقلل إلى أبعد حدّ ممكن سطوح تماسها مع الماء؛ وكنتيجة لذلك، تدفن الجزيئات غير القطبية (أو الأقسام من الجزيئات التي يغلب عليها طابع اللاقطبية) في باطن القطرات الشحمية أو البروتينات.

قوى فان در ڤالس:

تنشأ قوى فان در ڤالس من التجاذب بين الذرات أو الجزيئات التي تتكون فيها الأقطاب المزدوجة بصفة مؤقتة كنتيجة للتغيرات السريعة في توزع الشحنة التي تميز كافة الذرات المتعادلة. ورغم كونها ضعيفة عندما توجد منفردة، فعددها الكثير جداً يساهم بشكل فعّال في البنية ثلاثية الأبعاد للجزيئات الكبروية وثباتها. وهناك عاملان يفرضان على قوى فان در ڤالس العمل ضمن مجال ضيق فقط من المسافات بين الذرات: (1) تنقص قوى التجاذب بمقدار القوة السادسة للمسافة بين الأقطاب المزدوجة؛ و (2) عندما تقترب الذرات أو الجزيئات من بعضهما بعضاً، تتغلب قوى التنافر بينها بسرعة على قوة التجاذب (الشكل 3-5).

وتبلغ المسافة الوسطية بين الذرات أو الجزيئات التي تساهم قوى فان در ڤالس في ثباتها ما مقداره مجموع أطوال أنصاف أقطار فان در ڤالس الخاصة بها. وتتراوح أنصاف أقطار فان در ڤالس بالنسبة للذرات الهامة بيولوجياً بين 1 إلى 2 أنجستروم تقريباً (الجدول 3-2). وتصل تأثرات فان در ڤالس قوتها العُظمى عندما تكون المسافة بين الذرات مساوية لمحصلة مجموع أنصاف أقطار فان در ڤالس الخاصة بها.

وعلى الرغم من أن قوى فان در ڤالس أضعف بكثير من الروابط الهيدروجينية، فهما يعملان على مسافات متماثلة تبلغ 2-4 أنجسترومات تقريباً.



الشكل 3-5 : تأثير المسافة بين الجزيئات في طاقة تآثرها. وقطر فان در ڤالس هو أقل مسافة يمكن أن تفصل جزيئين عن بعضها بعضاً؛ ويمثل الخط المشار إليه بنجمة محصلة طاقة التآثر لجزيئين مع قطري فان در ڤالس r1و r2؛ ويمثل هذا الخط ناتج قوى الجذب والتنافر؛ وفي حين تزداد كلا القوتين مع اقتراب الجزيئات بعضها من بعض، فإن قوى التنافر ستتغلب عند مسافة قرب معينة. ويوافق المستوى الأدنى في منحني محصلّة طاقة التآثر (موضع النجمة) المسافة الأكثر استقراراً بين الجزيئين.

نصف قطر فان در ڤالس	نصف قطر الرابط التساهمي	الذرة
1.2	0.30	H
2.0	0.77	C
1.5	0.70	N
1.4	0.66	O
1.9	1.10	P
1.8	1.04	S

الجدول 3-2 : أنصاف الأقطار الذرية للذرات الهامة بيولوجياً مقدرة بالأنجستروم.

تعمل قوى متعددة على استقرار الجزيئات الكبروية:

يعتبر الدنا (DNA) مثالاً على كيفية مساهمة عدة قوى في الحفاظ على استقرار بنية الجزيئات الكبروية، حيث تعمل الروابط الهيدروجينية على استقرار ازدواج الأسس من نموذج واطسون ـ كريك وعلى ترابط الهيكل الفسفاتي المشحون مع الماء. ويقوم الهيكل عديد الأنيونات (Polyanionic backbone) بتشكيل تآثرات كهربية ساكنة مع الكاتيونات، بينما يسمح التقارب الشديد أو تكدس (Stacking) الأسس داخل جزيء الدنا (DNA) الحلزوني المضاعف باستقرار الجزيء ككل عن طريق قوى فان در ڤالس والتآثرات اللاتساهمية.

تغيّرُ الجزيئاتُ اللاقطبية من بنية الماء:

لا تستطيع الزمر اللاقطبية، كتلك الموجودة في الهيدروكربونات، تشكيل روابط هيدروجينية، ولذلك فهي غير ذوابة في الماء. وعندما تضاف الجزيئات اللاقطبية للماء، فهي تشكل قطيرات كروية ساعية إلى إنقاص سطوح تماسها مع الماء قدر الإمكان، وتتضح هذه الظاهرة من خلال ميل زيت الزيتون إلى تشكيل كتلة طافية واحدة عند وضعه في الماء البارد. هذا الميل الذي تبديه الجزيئات اللاقطبية لإنقاص سطوح تماسها مع الماء هو عملية موجهة اعتلاجياً (Entropically)، فوجود الجزيئات اللاقطبية ينقص عدد التوجهات الممكنة (Degrees of freedom)لجزيئات الماء المجاورة ويترافق، بالتالي، مع زيادة الاعتلاج. أما تصغير المساحة المكشوفة من السطح غير القطبي فيسمح بزيادة درجات الحرية (يزيد درجة الاضطراب) لجزيئات الماء المجاورة، ومن ثم يحد من هذه الزيادة في الاعتلاج. وتشكل الهيدروكربونات في الماء بنى مشبكة (Clathrate) قاسية (تشبه القفص). وبالمثل، ففي الوسط المائي للخلايا الحية، تميل الأجزاء غير القطبية للبلمرات الحيوية إلى الاستقرار داخل بنية البلمر البيولوجي مقللة من تماسها مع الماء.

يعتبر الماء مثالاً جيداً على محبات النوى:

يتضمن العديد من التفاعلات الأيضية مهاجمة جزيئات أو أيونات غنية بالإلكترونات تعرف باسم أليفات النوى (محبات النوى) (Nucleophiles) لمراكز موجبة تسمى أليفات الإلكترونات (محبات الإلكترونات) (Electrophiles)؛ وكمثال على ذلك، يتضمن تفكك الروابط التساهمية وتشكلها أليفات نوى غنية بالإلكترونات. ويمكن لأليفات لنوى أن تكون متعادلة كهربائيا أو أن تحمل شحنة سلبية أساسية. ومن أليفات النوى الشائعة داخل الخلايا نذكر هنا ذرات الأكسجين في الماء وفي الفسفات اللاعضوية والعضوية وذرات كبريت الثيولات الكحولات الثيولية (Thioalcohols) وذرات نتروجين الأمينات. كما تتضمن كافة تفاعلات التخليق الحيوي للبروتينات والأحماض النووية والشحميات أو تدركها مهاجمات تقوم بها أليفات النوى. وكذلك الحال بالنسبة لتحرر وحدات الجلوكوزيل (Glucosyl) من

عديد السكاريد الاختزاني، الجليكوجين، والذي يفيد كمدخر للطاقة في النسيج العضلي وفي الحفاظ على مستويات جلوكوز الدم في الكبد، حيث يشمل هذا التحرر مهاجمة ـ محفزة بالإنزيمات ـ لأليفات النوى بواسطة الأورثوفسفات اللاعضوية (Inorganic orthophosphate) أو الماء. وتؤدي المهاجمة المحفزة بالإنزيمات من قبل أكسجين الأورثوفسفات اللاعضوية على الروابط الجليكوزيدية 1، 4 في الجليكوجين إلى تحرير الجلوكوز –1– فسفات، كما تؤدي مهاجمة ذرات الأكسجين في الماء إلى تفكيك الروابط الجليكوزيدية 1 ، 6 وتشكيل الجلوكوز. وتعتبر هذه التفاعلات أمثلة توضح تفاعلات الفسرلة (Phosphorolysis) وتفاعلات الحلمهة (Hydrolysis)، على التوالي.

وعند الحديث عن آليات التفاعلات الأيضية نجد أن العديد منها يندرج تحت ما يسمى تفاعلات نقل الزمر أو (المجموعات) (Group transfer reactions) التي يتم فيها نقل مجموعة ما (G) من المعطي (D) إلى المتقبل (A) فيتشكل مركب من المتقبل والزمرة (A-G):

$$D - G \longleftrightarrow A - G + D$$

وتمثل حلمهة (Hydrolysis) الجليكوجين وفسرلته (Phosphorolysis) تفاعلات نقل زمر تنقل فيها وحدات الجلوكوزيل من الجليكوجين (المعطي) إلى الماء أو الأورثوفسفات (متقبل). تشير ثابتة التوازن لتفاعلات حلمهة الروابط التساهمية أن التفاعل يميل للسير باتجاه نحو نواتج الانشطار، وبالتالي فتفاعلات الحلمهة هي تفاعلات مفضلة بقوة. فإذا أخذنا هذا في الاعتبار بالإضافة إلى طبيعة الماء الأليفة للنوى وتركيزها المرتفع داخل الخلايا، تبرز التساؤلات المنطقية التالية: كيف تبقى البلمرات البيولوجية كالبروتينات والدنا (DNA) مستقرة نسبياً؟ وكيف تستطيع تفاعلات تخليق هذه البلمرات أن تتم في هذا الوسط المائي الواضح؟ في الإجابة على هذه الأسئلة تأتي أولاً الحقيقة التالية: ليس من الضروري أن تجري التفاعلات، حتى المفضلة منها ثرموديناميكياً، بسرعة في غياب التحفيز الإنزيمي. ثم تأتي خصائص الإنزيمات في صلب هذه التساؤلات، فالإنزيمات هي المُحفزات البيولوجية التي تعمل على تسريع معدلات تفاعلات نوعية عن طريق تأمين حالات انتقالية

تخفض الحواجز الطاقية التي تعيق التفاعلات. وفي الخلايا الحية، يساهم كل من التحكم الدقيق والتّفريقي بنشاط الإنزيمات واحتجاز الإنزيمات في عضيات معينة في تحديد الشروط الفيزيولوجية التي يتدرك في ظلها بلمر بيولوجي معين.

كما أن التّخليق البيولوجي للجزيئات الكبروية (الضخمة) يتضمن تفاعلات نقل للزمر، وتقرن تفاعلات تخليق الروابط التساهمية غير المفضلة ثرموديناميكياً مع تفاعلات مفضلة ثرموديناميكياً بحيث يؤدي التغير العام في الطاقة الحرة إلى اتجاه التفاعل نحو تخليق البلمر البيولوجي. أما لماذا لا تحلمه البلمرات المخلقة حديثاً مباشرة ، فجزء من الجواب يكمن في أن المواقع الفعالة لإنزيمات التخليق تعزل البلمر قيد التخليق في بيئة يطرد منها الماء.

تبدي جزيئات الماء ميلاً ضعيفاً للتفكك، لكنه في غاية الأهمية فيزيولوجياً:

إن لقابلية الماء للتأين (Ionize)، رغم ضعفها، أهمية مركزية بالنسبة للحياة على الأرض. وبما أن الماء يستطيع العمل كحمض كأساس، فمن الممكن تصور تأينه على أنه تناقل بروتون بين الجزيئات ليتشكل أيون الهيدرونيوم (H_3O^+) وأيون الهيدروكسيد OH^- كما يلي:

$$H_2O + H_2O \rightleftharpoons H_3O^+ + OH^-$$

وفي حقيقة الأمر فإن البروتون يرتبط مع مجموعة من جزيئات الماء، وهو لا يوجد في المحلول على شكل H_3O^+، بل بشكل أقرب إلى $H_5O_2^+$ أو $H_7O_3^+$. ومع ذلك فإننا، ولأهداف عملية، نكتب هذا البروتون «المجرد» ظاهرياً على شكل H^+ مع الأخذ بعين الاعتبار ألا ننسى أنه في الحقيقة مميه (Hydrated) بشدة.

وبما أن الأيونات تعاود الاتحاد باستمرار لتشكل جزيئات الماء، والعكس بالعكس، فمن غير الممكن أن نقرر فيما إذا كانت ذرة هيدروجين أو أكسجين موجودة كأيون أم أنها ضمن جزيء الماء، فهي أيون حيناً وجزء من الماء حيناً آخر، وليس من الضروري، ولحسن الحظ، أن ندرس الجزيئات أو الأيونات بشكل منفرد.

وبما أن جراماً واحداً من الماء يحوي 3.46×10^{22} جزيئاً، فإنه من الممكن وصف تأين الماء إحصائياً، ويكفي أن نعرف ما مدى احتمال وجود الهيدروجين كأيون أو كجزء من الماء.

وعندما نقول أن احتمال وجود الهيدروجين كأيون هو 0.10، فهذا يعني أن لذرة الهيدروجين فرصة واحدة من مائة فرصة لتكون أيوناً و 99 فرصة من مائة لتكون ضمن جزيء ماء. والاحتمال الحقيقي لوجود الهيدروجين كأيون في الماء النقي يساوي تقريباً 0.000000018 أو 1.8×10^{-9}، وبالتالي، فإنّ احتمال وجودها كجزء من الماء يساوي تقريباً 100 ٪.

وبطريقة أخرى، فإنه في مقابل كل أيون (Ion) هيدروجين أو هيدروكسيل في الماء النقي، يوجد 1.8 بليون (أو 1.8×10^{9}) جزيئاً من الماء؛ ومع ذلك فإن لأيونات الهيدروجين والهيدروكسيل أثر كبير ومهم على خصائص الماء.

تحسب ثابتة تفاعل تفارق الماء (Dissociation constant) التي يرمز لها بالرمز K كما يلي:

$$K = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]}$$

بحيث تمثل التعابير المحاطة بقوسين التركيز الجزيئي لأيونات الهيدروجين والهيدروكسيل وجزيئات الماء غير المتأينة ×. ولحساب K رقمياً، نذكر أن وزن جزيء واحد من الماء هو 18 ج، وبالتالي فإن ليتراً من الماء (1000 جم) يحوي $1000 \div 18 = 55.56$ مول (أي أن التركيز الجزيئي للماء النقي هو 55.65 جزيء/ل). وبما أن احتمال وجود الهيدروجين على شكل أيون في الماء النقي هو 1.8×10^{-9}، فإذا ضربنا نسبة الاحمال بالتركيز الجزيئي للماء سنحصل على التركيز الجزيئي لأيونات الهيدروجين أو (أيونات الهيدروكسيل) في الماء النقي وهو 1×10^{-7} مول/ل.

ونستطيع الآن حساب K بالنسبة للماء كما يلي:

$$K = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} = \frac{[10^{-7}][10^{-7}]}{[55.56]}$$

$$= 0.018 \times 10^{-14} = 1.8 \times 10^{-16}\ mol/L$$

وبنظرة متفحصة لهذه الأرقام نجد أن تركيز جزيئات الماء العالي (55.56 مول/ل) (mol/L) لا يتأثر بشكل ملحوظ بالتفارق، وبالتالي فإن من الممكن الاتفاق على اعتباره ثابتاً ودمجه بالثابتة K لنحصل على ثابتة جديدة تدعى الناتج الأيوني للماء (Ion product of water) ويرمز له بالرمز K_w، وتتضح العلاقة بين K و K_W كما يلي:

$$K = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} = 1.8 \times 10^{-16}\ mol/L$$

$$K_W = (K)[H_2O] = [H^+][OH^-]$$

$$= (1.8 \times 10^{-16}\ mol/L)\ \ (55.56\ mol/L)$$

$$= 0.018 \times 10^{-14} (mol/L)^2$$

نؤكد هنا على أن المقصود بالتعابير المحاطة بقوسين هو النشاط الجزيئي وليس التركيز الجزيئي.

لاحظ أن قيمة K تقدر بالمول/ل، بينما تقدر قيمة K_W بالمول ^{2}/ل^2، وكما يوحي اسمه، فالناتج الأيوني للماء K_W يساوي رقمياً ناتج التراكيز الجزيئية لأيونات الهيدروجين والهيدروكسيل:

$$K_W = [H^+][OH^-]$$

إن قيمة الثابتة K_w في درجة الحرارة 25^o م تساوي $(10^{-7})^2$ أي 10^{-14} (مول/ل)2، وترتفع هذه القيمة بارتفاع درجة الحرارة وتنخفض بانخفاضها؛ فعلى سبيل المثال، يكون تركيز أيونات الهيدروجين في الماء النقي في درجة الحرارة المعادلة لدرجة حرارة جسم الإنسان أعلى قليلاً من 10^{-7} جزيء/ل. وضمن مدى التأثيرات المحدودة لمجال درجات الحرارة، تبقى K_w تساوي 10^{-14} (مول/ل)^2 في كل المحاليل المائية حتى الحاوية منها على أحماض أو قواعد (أسس). وسنستخدم هذه القيمة لحساب قيم باهاء (pH) للمحاليل الحمضية والقاعدية القلوية).

الباهاء (pH) هي القيمة السالبة للوغاريتم تركيز أيونات الهيدروجين:

دخل مصطلح الباهاء (pH) عالمنا في العام 1909، وكان العالم سورنسن Sorensen هو أول من استخدمه وعرفه على أنه القيمة السالبة للوغاريتم تركيز أيونات الهيدروجين $[H^+]$:

$$pH = -\log [H^+]$$

وبالرغم من عدم دقة هذا التعريف*، فإنه كاف لكل أغراض الكيمياء الحيوية. ولحساب قيمة باهاء (pH) محلول ما نقوم بما يلي:

1 – حساب تركيز أيونات الهيدروجين، أي $[H^+]$.

2 – حساب اللوغاريتم العشري لـ $[H^+]$.

3 – قيمة الباهاء (pH) هي القيمة السالبة لناتج المرحلة 2. فمثلاً باهاء (pH) الماء النّقي في درجة الحرارة 25 مئوية تساوي:

$$pH = -\log [H^+] = -\log 10^{-7} = -(-7) = 7.0$$

* *الباهاء (pH) هي القيمة السالبة للوغاريتم نشاط أيونات الهيدروجين.*

وتتناسب قيمة الباهاء (pH) عكسياً مع تركيز أيونات الهيدروجين، فالقيم المرتفعة للأول تعبر عن القيم المنخفضة للثاني، كما أن القيم المنخفضة للأول تعبر عن القيم المرتفعة للثاني.

تعرف الأحماض (Acids) على أنها مانحة للبروتونات (Proton donors)، بينما تعرف الأسس (القواعد) (Bases) على أنها مستقبلة للبروتونات (Proton acceptors)؛ لكن يجب التمييز أيضاً بين الأحماض القوية (Strong acids) (كحمض الكبريتيك وحمض الهيدروكلوريك) التي تتفارق (تتأين: Dissociate) بشكل تام إلى أنيونات وكاتيونات حتى في المحاليل الحمضية (باهاء pH منخفضة) وبين الأحماض الضعيفة (Weak acids) التي يبقى تأيُّنها جزيئاً في المحاليل الحمضية. وبنفس الطريقة، يجب التمييز بين الأسس الضعيفة (Weak bases) مثل $C_a(OH)_2$ والأسس القوية (Strong bases) (مثل NaOH و KOH)، فهذه الأخيرة هي وحدها التي تستطيع التأيّن في المحاليل ذات الباهاء (pH) العالية. وفي الواقع، تملك العديد من المركبات الكيميائية الحيوية خاصية الأحماض الضعيفة، ويستثنى من ذلك المتأيضات المتوسطة المفسفتة (Phosphorylated) التي تملك مجموعة حمض الفوسفوريك الأولية ذات الصفة الحمضية القوية.

وفيما يلي أمثلة عن طريقة حساب باهاء (pH) المحاليل الحمضية والقاعدية:

مثال: ما هي قيمة الباهاء (pH) لمحلول تركيز أيونات الهيدروجين فيه يساوي 3.2×10^{-4} مول/ل؟

$$
\begin{aligned}
pH &= -\log [H^+] \\
&= -\log (3.2 \times 10^{-4}) \\
&= -\log (3.2) - \log (10^{-4}) \\
&= -0.5 + 4 \\
&= 3.5
\end{aligned}
$$

مثال: ما هي قيمة الباهاء (pH) لمحلول تركيز أيونات الهيدروكسيل فيه يساوي 3.2×10^{-4} مول/ل؟

$$pH = -\log [H^+]$$
$$= -\log (3.2 \times 10^{-4})$$
$$= -\log (3.2) - \log (10^{-4})$$
$$= -0.5 + 4$$
$$= 3.5$$

لحل هذه المسألة، نعرف قيمة pOH التي تساوي القيمة السالبة للوغاريتم تركيز أيونات الهيدروكسيل ـ ($-\log [OH^-]$). والتي يمكن اشتقاقها من تعريف ثابتة المنتج الأيوني للماء (K_w):

$$K_w = [H^+] [OH] = 10^{-14}$$

أو

$$\log [H^+] + \log [OH^-] = 10^{-14}$$

ولذلك فإن:

$$pH + pOH = 14$$

والآن يمكننا حل المسألة السابقة كما يلي:

$$[OH^-] = 4.0 \times 10^{-4}$$
$$pOH = \log [OH^-]$$
$$= -\log (4.0 \times 10^{-4})$$
$$= -\log (4.0) - \log (10^{-4})$$
$$= -0.60 + 4$$
$$= 3.4$$

والآن:

$$pH = 14 - pOH = 14 - 3.4$$
$$= 10.6$$

مثال: احسب قيم الباهاء (pH) للمحلولين التاليين:

(أ) محلول KOH تركيزه 2.0×10^{-2} مول/ل.

(ب) محلول KOH تركيزه 2.0×10^{-6} مول/ل.

تأتي أيونات الهيدروكسيل من مصدرين يجب أخذهما بعين الاعتبار وهما KOH والماء، وبينما نستطيع اعتبار مساهمة الماء في مجموع أيونات الهيدروكسيل مهملة في المحلول الأول، لا يمكن اعتباره كذلك في المحلول الثاني:

	التركيز (جزيء/ل)	
	أ	ب
مولية الـ KOH	2.0×10^{-2}	2.0×10^{-6}
[-OH] من KOH	2.0×10^{-2}	2.0×10^{-6}
[-OH] من الماء	1.0×10^{-7}	1.0×10^{-7}
[-OH] الإجمالي	2.00001×10^{-2}	2.1×10^{-6}

وعندما نصل إلى القرار حول أهمية مساهمة الماء، يمكن حساب باهاء (pH) المحلول بالطريقة التي ذكرت أعلاه.

افترضنا في الأمثلة أعلاه أن KOH تأيّن بكامله في المحلول، وبالتالي، فالتركيز الجزيئي لأيونات الهيدروكسيل مساو تماماً للتركيز الجزيئي لهيدروكسيد البوتاسيوم. وينطبق هذا الافتراض على محاليل الأحماض أو الأسس القوية المخففة نسبياً ولا ينطبق على محاليل الأحماض أو الأسس الضعيفة. وبما أن هذه الكهارل الضعيفة تتأيّن بشكل خفيف في المحاليل، فإنه يتوجب علينا حساب تركيز أيونات الهيدروجين أو (الهيدروكسيل) الناتجة عن مولية (Molarity) (معينة للحمض أو الأساس) باستخدام ثابتة التفارق أو التأيّن (Dissociation constant) قبل حساب [+H] (أو [-OH]) الإجمالي، ومن ثم حساب قيمة الباهاء (pH).

للمجموعات الوظيفية ذات الصفة الحمضية الضعيفة أهمية فيزيولوجية كبيرة:

تملك العديد من المركبات الكيميائية الحيوية مجموعات وظيفية حمضية أو قاعدية ضعيفة، وتحتوي كل البروتينات والأحماض النووية ومعظم التمائم الإنزيمية والمتأيضات المتوسطة على واحدة أو أكثر من هذه المجموعات (الكربوكسيلية أو الأمينية أو تفارق الفوسفات الثانوي لإسترات الفوسفات). ولهذا السبب يعتبر السلوك التّأيني (التوازنات البروتونية) للمجموعات الوظيفية الحمضية والأساسية الضعيفة أساسياً في فهم تأثير باهاء (pH) الوسط داخل الخلوي على بنية المركبات السابقة ونشاطها الكيميائي الحيوي. كما أن فهم السلوك التأيني للمجموعات السابقة سهل آليات فصل هذه المركبات وتمييزها في الأبحاث والمختبرات الإكلينيكية (Clinical laboratories).

نطلق على الشكل البروتوني (Protonated form) من حمض ما (مثل HA و RNH_3^+) تسمية الحمض، بينما نسمي الشكل غير البروتوني (Unprotonated) (مثل A^- و RNH_2) باسم قاعدته الانضمامية (Conjugate base). وبالمثل، نسمي القاعدة (الأساس) (مثل A^- و RNH_2) وحمضها الانضمامي (Conjugate acid) (مثل HA و RNH_3^+) [تعني الكلمة اللاتينية *coniungere* : أن تجمع معاً]. وفيما يلي تمثيل لأحماض ضعيفة (الأيسر) وقواعدها الانضمامية (الوسط) وقيم الـ p*K* الخاصة بها (الأيمن):

$R - CH_2 - COOH$	$R - CH_2 - COO-$	p*K* = 4 - 5
$R - CH_2 - NH_2^+$	$R - CH_2 - NH_2$	p*K* = 9 - 10
H_2CO_3	HCO_3^-	p*K* = 4.6
$H_2PO_4^-$	HPO_4^{-2}	p*K* =7.2

يعبر عن القوى النسبية للأحماض والأسس الضعيفة كمياً بثوابت تفارقها (Dissociation constants) التي تشير إلى مدى ميلها لتتأين، وفيما يلي معادلتين تعبران عن ثابتتي تفارق (*K*) لصيغتين تمثيليتين لحمضين ضعيفين:

$$R-COOH \rightleftharpoons R-COO^- + H^+$$

$$R = \frac{[R-COO^-][H^+]}{[R-COOH]}$$

$$R-NH_3^+ \rightleftharpoons R-NH_2 + H^+$$

$$K = \frac{[R-NH_2][H^+]}{[R-NH_3^+]}$$

وبما أن قيم K للأحماض الضعيفة هي أرقام أسية (دليلية) وأسها (دليلها) سالب، فإن من الأفضل التعبير عنها على شكل pK حيث:

$$pK = -\log K$$

لاحظ أن pK متعلقة بـ K كما هو الحال بالنسبة لتعلق الباهاء (pH) بتركيز أيونات الهيدروجين، ويعرض (الجدول 3-3) قيم pK و K الخاصة بحمض أحادي وآخر ثنائي وثالث ثلاثي الوظيفة الكربوكسيلية، ويجب أن تلاحظ أن الوظائف الحمضية الأقوى تكون لها قيم pK أقل.

الحمض	K	pK
الخلّيك (أسيتيك)	1.76×10^{-5}	4.75
الجلوتاميك	(الأولى) 4.58×10^{-5} (الثانية) 3.89×10^{-6}	4.34 5.41
السيتريك	(الأولى) 8.40×10^{-4} (الثانية) 4.00×10^{-5} (الثالثة) 4.00×10^{-6}	3.08 4.74 5.40

الجدول 3-3 : قيم ثوابت التفارق والـ pK للوظائف الكربوكسيلية لثلاثة أحماض.

إن مفهوم الحمض الضعيف يوحي ضمناً بأن قرينه أساس قوي، وكذلك فإن قرين الأساس القوي هو حمض ضعيف. ونعبر في الكيمياء الحيوية عن القوى النسبية للأسس بقيم الـ p*K* لأحماضها الانضمامية (القرينة)، فعلى سبيل المثال وفيما يخص التفارق التالي:

$$R - NH_3^+ \longrightarrow R - NH_2$$

تدل p*K* على قيمة الباهاء (pH) التي يكون عندها تركيز الحمض ($R^-NH_3^+$) والأساس ($R-NH_2$) متساويين. ويبين استخدام متثابتة (Parameter) واحدة (p*K*) للتعبير عن القوى النسبية للحمض والأسس الدور المزدوج الذي تلعبه العديد من الأحماض والأسس الضعيفة في الكيمياء الحيوية. فعلى سبيل المثال، يمكن للسلسلة R لحمض أميني معين في الموقع الفعّال لإنزيم ما أن تعمل كمعط للبروتون (أي تعمل كحمض) خلال إحدى مراحل دورة التحفيز وكمستقبل له (أي كأساس) خلال مرحلة لاحقة.

تتبع المعادلات السابقة التي تبين العلاقة بين *K* وتركيز أيونات الهيدروجين وتركيز الحمض غير المتأين وتركيز أساسه الانضمامي، ولاحظ أن عندما يكون:

$$[R - COO^-] = [R - COOH]$$

أو

$$[R - NH_2] = [R - NH_3+$$

فإن

$$K = [H^+]$$

ويمكن التعبير عن ذلك بالكلام التالي: عندما تتساوى تراكيز الشكل البروتوني غير (المتفارق) مع الشكل المتفارق (الأساس الانضمامي)، تكون قيمة تركيز أيونات الهيدروجين [H+] مساوية رقمياً لقيمة ثابتة التفارق *K*. فإذا أخذنا لوغاريتم طرفي المعادلة الأخيرة ثم ضربنا الطرفين بـ – 1، تصبح هذه المعادلة كما يلي:

$$K = [H^+]$$

$$-\log K = -\log [H^+]$$

وهذا يعني أن p*K* الخاصة بمجموعة حمضية هي قيمة الباهاء (pH) التي يوجد عندها الشكل البروتوني والشكل غير البروتوني بتراكيز متساوية.

$$pK = pH$$

ويمكن تحديد قيمة الـ p*K* لحمضٍ ما تجريبياً بإضافة نصف مكافئ من الأساس إلى كل مكافئ من الحمض، فتكون قيمة الباهاء (pH) الناتجة مساوية لقيمة الـ p*K* الخاصة بالحمض.

يمكن وصف سلوك الأحماض الضعيفة والدوارئ عن طريق معادلة هندرسون ـ هاسلباخ (Henderson-Hasselbalch):

تتعلق قيمة الباهاء (pH) لمحلول يحوي حمضاً ضعيفاً بثابتة تفارقه (كما ذكر سابقاً فيما يتعلق بالماء كحمض ضعيف)، ويمكن تحديد هذه العلاقة بشكل جيد بواسطة معادلة هندرسون ـ هاسلباخ التي يمكن اشتقاقها كما يلي:

يتأيّن الحمض الضعيف (HA) كما يلي:

$$HA \rightleftharpoons H^+ + A^-$$

تكتب ثابتة توازن هذا التفاعل كما يلي:

$$K = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

بتطبيق مبدأ التناسب (جداء الطرفين يساوي جداء الوسطين):

$$[H^+]\ [A^-] = K\,[HA]$$

وبتقسيم كلا الطرفين على $[A^-]$ نجد:

$$[H^+] = K \frac{[HA]}{[A^-]}$$

خذ لوغاريتم الطرفين:

$$\log [H^+] = \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

$$= \log K + \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

اضرب الطرفين بالعدد – 1:

$$\log [H^+] = - \log K - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

استبدل اللوغاريتمات بما يقابلها:

$$pH = pK - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

تخلص من الإشارة السالبة بقلب الكسر الأخير:

$$pH = pK + \log \frac{[A-]}{[HA]}$$

وهكذا تكون قد حصلت على معادلة هندرسون ـ هاسلباخ ذات الأهمية الكبرى في التنبؤ عن التوازن البروتوني، وإليك الأمثلة التالية:

1 – عند تعديل الحمض لدرجة النصف تماماً، يكون $[A^-] = [HA]$ وتكون قيمة الباهاء (pH):

$$pH = pK + \log \frac{[A-]}{[HA]} = pK + \log \frac{1}{1} = p\,K + 0$$

إذن، عند الاستعدال النصفي (Half-neutralization) تكون قيمة باهاء (pH) مساوية لقيمة p*K*.

2– عندما تكون النسبة $[A^-]$ إلى [HA] هي 1:100، نجد أن:

$$pH = pK + \log \frac{[A-]}{[HA]}$$
$$= pK + \log \frac{100}{1} = p\,K + 2$$

3 – عندما تكون النسبة $[A^-]$ إلى [HA] هي 1: 10، نجد أن:

$$pH = pK + \log 1/10 = pK = (-1)$$

إذا قمنا بحساب قيم الباهاء (pH) الموافقة لمختلف قيم النسبة $[A^-]$ إلى [HA] الواقعة بين 10^{+3} و 10^{-3} ثم أسقطناها على مخطط بياني، نحصل على ما يسمى منحني المعايرة (Titration curve) للحمض الضعيف (الشكل 3-6).

تقوم محاليل الأحماض الضعيفة مع أملاحها بوظيفة دارئة للباهاء (pH):

تكتسب محاليل الأحماض الضعيفة مع أسسها الانضمامية القرينة (أو الأسس الضعيفة مع أحماضها الانضمامية)، خاصية الدرء (Buffering)، أي قدرة المحلول على مقاومة أي تغير في قيمة الباهاء (pH) عند إضافة حمض أو أساس قوي بشكل أكثر فعالية مما يبديه الحجم نفسه من الماء.

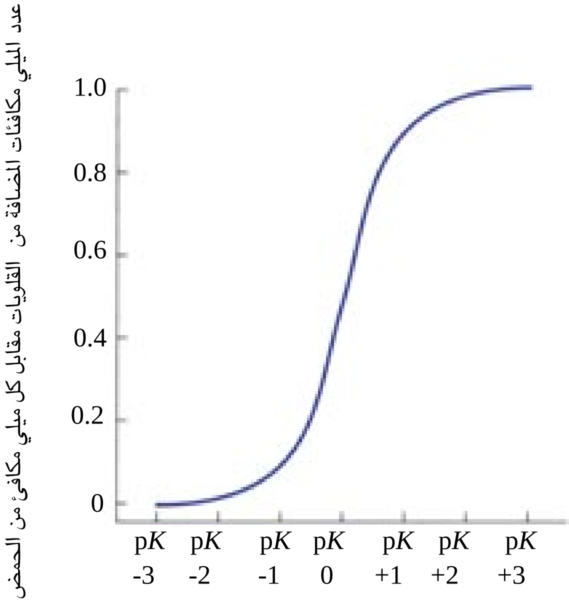
إن العديد من النواتج المتوسطة للأيض مثل السكاكر المفسفرة في سبيل تحلل

السكر) هي عبارة عن أحماض ضعيفة؛ وبما أن التغيرات الطفيفة في قيم الباهاء (pH) قريباً من قيم الـ pK الخاصة بحمض ضعيف تغير في النسبة بين شكليه المتأيّن غير المتأين، فإنه يجب درء التفاعلات داخل الخلية للتقليل من تغيرات قيم الباهاء (pH). هذا الدرء مطلوب أيضاً لأن الأيض ينجم عنه أيضاً تحرير البروتونات وقبطُها (Uptake)، وفي الواقع، إن أحد المنتجات النهائية للأيض التأكسدي هو غاز ثاني أكسيد الكربون (بلا ماء؛ أنهيدريد "Anhydride" حمض الكربونيك) الذي إذا لم يدرأ سوف يؤدي إلى تحميض شديد للوسط داخل الخلوي.

وتتضمن آليات الاستتباب التي تحافظ على قيمة باهاء (pH) السائل داخل الخلوي ما يسمى الدوارئ الفيزيولوجية، وبشكل أساسي الفسفات والبيكربونات والبروتينات التي تتقبل بروتونات أو تطلقها فتدرأ بذلك باهاء (pH) الأوساط وتقاوم تغيرات قيمتها. وفي التجارب التي تستخدم خلاصات نسيجية أو إنزيمات منقاة، نحافظ على قيم باهاء (pH) ثابتة بإضافة الدوارئ.

ومن الأحماض الضعيفة المستخدمة بشكل شائع كدوارئ نذكر كلاً من حمض الأسيتيك (pK = 4.7) وحمض [2–N – مورفولينو] إيثان سلفونيك (أو الـ MES، pK = 6.1) والفسفات الثانوي من الأورثوفسفات اللاعضوية (pK = 7.2) وحمض البيبيرازين ثنائي إيثان السلفونيك (أو الـ PIPES، pK = 6.8) وحمض N – هيدروكسي إيثيل بيبيرازين –N̄–2– إيثان السلفونيك (أو الـ HEPES، pK = 6.8) وحمض ثلاثي هيدروكسي ميثيل أمينو ميثان أو التريس (TRIS، pK = 8.3) والجليسيل جلايسين (pK = 8.2) وعند اختيار دارئة ما، يجب الأخذ بعين الاعتبار قيمة الـ pK بالنسبة إلى قيمة الباهاء (pH) المرغوبة.

كما يمكن حساب الكمية المطلوبة من الدارئة من خلال معرفتنا لعدد البروتونات المفترض أنها ستضم أو تحرر، ومن خلال قيمة الباهاء (pH) المرغوبة نسبة إلى قيمة pK الحمض المستخدم في الدارئة، ويجب أن نتذكر ثانية أن فعالية الدارئة تكون في حدها الأقصى عند قيم باهاء (pH) المساوية لقيمة pK أو القريبة منها.



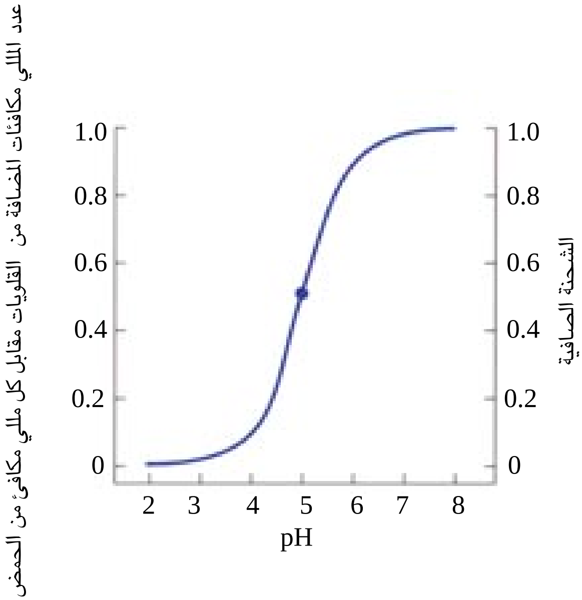
الشكل 3-6 : الشكل العام لمنحني معايرة محسوب اعتماداً على معادلة هندرسون ـ هاسلباخ.

ويمكن إيضاح دور الدارئة بشكل أمثل عن طريق معايرة حمض أو أساس ضعيف باستخدام مقياس الباهاء (pH)؛ أما الطريقة البديلة، فتقوم على حساب تغيرات قيمة باهاء (pH) المحلول المدروء عندما نضيف إليه حمضا أو أساساً. وفي المثال التالي استخدمنا محلولاً مدروءاً (حمض ضعيف، $pK = 5.0$، مع أساسه الانضمامي) في أربع حالات لكل منها قيمة معينة للباهاء (pH) (القيم البدئية) ثم أضفنا لكل 1 مللي مكافئ (mEq) من المحلول في كل حالة 1 مللي مكافئ من KOH وقسنا تغيرات قيم الباهاء (pH) البدئية وكانت النتائج كما هو موضح في الجدول التالي:

الباهاء (pH) البدئية	5.00	5.37	5.60	5.86
[A^-] البدئية	0.50	0.70	0.80	0.88
[HA] البدئية	0.50	0.30	0.20	0.12
([HA]/[A^-]) البدئية	1.00	2.33	4.00	7.33
بإضافة 1 مللي مكافئ من KOH تصبح:				
[A^-] النهائية	0.60	0.80	0.90	0.98
[HA] النهائية	0.40	0.20	0.10	0.02
([HA]/[A^-]) النهائية	1.50	4.00	9.00	49.0
لوغاريتم ([HA]/[A^-])	0.176	0.602	0.95	1.69
الباهاء (pH) النهائية	5.18	5.60	5.95	6.69
تغيرات الباهاء (pH)	0.18	0.60	0.95	1.69

لاحظ أن مقدار تغير قيمة باهاء (pH) المحلول عند إضافة مللي مكافئ واحد من أيونات الهيدروكسيل (OH^-) يتعلق بشكل واضح بقيمتها البدئية، وأنه عندما تكون قيمة الباهاء (pH) قريبة من قيمة p*K*، فإن المحلول يقاوم حدوث تغير في قيم الأولى بشكل أكثر فعالية، ويقال في هذه الحالة إن للمحلول تأثيراً دارئاً (Buffering effect). ويمكن الاستنتاج أن التأثير الدّارئ لمحاليل الأحماض الضعيفة مع أسسها الانضمامية يكون على أشده عند قيم باهاء (pH) ضمن المجال p*K* ± 2.0 ؛ وهذا يعني أنه لدرء محلول عند باهاء (pH) قيمتها «س» يجب استخدام حمض أو أساس ضعيف قيمة الـ p*K* الخاصة به تساوي «س ± 2.0».

ويوضح (الشكل 3-7) علاقة الشحنة الصافية لجزيء حمضي بقيم الباهاء (pH)، ويجب الانتباه إلى أن الشحنة الجزيئة ذات القيمة ـ 0.5 لا تعني أن الجزيء يحمل شحنة جزيئة، بل تعني أن الاحتمال الإحصائي لحمل الجزيء لشحنة سالبة هو 0.5. ومن المهم أن نذكر هنا أن دراسة علاقة الشحنة التي تحملها الجزيئات الكبروية بقيمة باهاء (pH) الوسط تشكل أساس العديد من تقنيات الفصل بما فيها استخدام الرحلان الكهربي لفصل الأحماض الأمينية وبروتينات البلازما والأشكال الشاذة (غير السوية) من الهيموجلوبين.



الشكل 3-7 : منحني معايرة حمض من النمط HA. تشير النقطة السوداء (•) في المركز إلى قيمة (5.0) p*K*.

تعتمد قوة الحمض على البنية الجزيئية :

يمكن لكلورة حمض الأسيتيك وحمض البوتيريك (Butyric acid) أن توضح لنا تأثير البنية الجزيئية على قيم الـ p*K* (الجدول 3-4). قارن قيم p*K* للحمضين المذكورين عند كلورتها بذرة كلور واحدة مع قيم p*K* للحمضين غير المستبدلين ولاحظ ترافق الكلورة مع انخفاض قيم الـ p*K*، ويمكن تفسير ذلك بارتفاع كهرسلبية (Electronegativity) الكلور التي تجتذب الإلكترونات فتسهل تحرر البروتونات مؤدية إلى انخفاض قيمة الـ p*K*. ونلاحظ من قيم p*K* حمض الأسيتيك أحادي وثنائي وثلاثي الكلور أن هذا التأثير يزداد مع زيادة عدد ذرات الكلور، كما نلاحظ أن هذا التأثير ينقص مع زيادة المسافة بين ذرة الكلور والمجموعة المتأينة من حمض البوتيريك.

يحتوي العديد من الأحماض ذات الأهمية البيولوجية على أكثر من مجموعة تفارق أي أنها متعددة البروتونات (Polyprotic)، ولكل مجموعة قيمة pK معينة وخاصة بها لكنها تتأثر ببعضها بعضاً؛ حيث أن وجود شحنة سلبية مجاورة يعيق تحرر البروتون من مجموعة التفارق الكربوكسيلية المجاورة فيرفع قيمة الـ pK، ويتضح هذا التأثير من خلال قيم pK الخاصة بمجموعات التفارق لحمضي الفسفور والسيتريك (الجدول 3-5)، كما يتضح أن تأثير الشحنة السلبية ينقص مع ابتعادها عن مجموعة التفارق بمقارنة قيمة pK2 لحمض السكسينيك (5.6) (Succinic acid) معها لحمض الجلوتاريك (Glutaric) (5.4).

الحمض	pK
الأسيتيك	4.75
أحادي الكلور	2.85
ثنائي الكلور	1.48
ثلاثي الكلور	0.70
البوتيريك	4.81
ألفا كلوروبوتيريك	2.86
بيتا كلوروبوتيريك	4.05
جاما كلوروبوتيريك	4.52

الجدول 3-4 : قم الـ pK لحمضي الأسيتيك والبوتيريك المكلورة.

أحماض أحادية البروتون		
الفورميك	pK	3.75
اللاكتيك	pK	3.86
الأسيتيك	pK	4.76
أيون الأمونيوم	pK	9.25
أحماض ثنائية البروتون		
الكربونيك	pK_1	6.37
	pK_2	10.25
السكسينيك	pK_1	4.21
	pK_2	5.64
الجلوتاريك	pK_1	4.34
	pK_2	5.41
أحماض ثلاثية البروتون		
الفسفوريك	pK_1	2.15
	pK_2	6.82
	pK_3	12.38
السيتريك	pK_1	3.08
	pK_2	4.74
	pK_3	5.40

الجدول 3-5: القوى النسبية لبعض الأحماض ذات الأهمية البيولوجية. يضم الجدول قيم الـ pK (القيم السالبة للوغاريتم ثابتة التفارق) لبعض الأحماض وحيدة وثنائية وثلاثية البروتونات.

تعتمد قيم الـ pK على خصائص الوسط المحيط:

تتأثر قيمة pK للمجموعة الوظيفية تأثراً كبيراً ببيئة الوسط المحيط الذي يمكن أن يزيدها أو ينقصها حسب جزئه المشحون (الحمض غير المتفارق أم أساسه الانضمامي)، ويمكن إيضاح تأثير تركيب الوسط المحيط على pK الحمض الكربوكسيلي أو الأمين البروتوني (Protonated amine) من خلال تأثير تغير ثابتة مخلل الكهرباء، فعند إضافة الإيثانول إلى الماء ترتفع قيمة pK الحمض الكربوكسيلي وتنخفض pK الأمين البروتوني. وبالنسبة للأحماض متعددة البروتونات، فسيدعم الوسط الذي تكون فيه ثابتة مخلل الكهرباء عالية وجود الأنواع عالية الشحنة والسبب في ذلك أن الإيثانول يخفف من قدرة الماء على إذابة الجزء المشحون (أنيون الكربوكسيل في الحمض الكربوكسيلي والأمونيا المشحونة في الأمين). هذا يعني أن انخفاض ثابتة مخلل الكهرباء للوسط يؤدي إلى خفض قيمة pK الحمض الذي يكون جزؤه المشحون هو الأساس الانضمامي. ولهذا السبب فإن قيم pK للمجموعات المتفارقة الموجودة داخل البروتين تتأثر بشكل ملحوظ ببيئتها الموضعية (مثل وجود جزيئات الماء أو غيابها).

الخلاصة:

يمكن للماء أن يوجد في الحالة الصلبة أو السائلة حيث ترتبط جزيئاته بعضها ببعض بروابط هيدروجينية، كما أنه يشكل مثل هذه الروابط مع مواد أخرى مانحة أو مستقبلة للبروتونات. هذه القدرة على تشكيل الروابط الهيدروجينية تمنح الماء خصائصه المميزة كتوتره السطحي ولزوجته وحالته السائلة في درجة حرارة الغرفة وقوة إذابته للمواد الأخرى، فالمركبات الحاوية على الأكسجين والنتروجين والكبريت تذوب في الماء بسبب قدرتها على أن تعمل كمستقبلات للهيدروجين أو مانحات له. أما البروتينات والجزيئات الكبروية الأخرى التي تستقر بنيتها بواسطة الروابط الهيدروجينية، فإنها تبدل بعضاً من هذه الروابط على سطحها بروابط هيدروجينية مع الماء.

يعدل الماء من خصائص الجزيئات الحيوية كالبروتينات والأحماض النووية التي تملك مجموعات وظيفية قطبية ولاقطبية، حيث تملي قوى الاعتلاج (Entropy) على الجزيئات الكبروية أن تتطوى (Fold) في المحاليل المائية بطريقة تسمح لأجزائها القطبية أن تلامس الماء بينما تنطمر أجزاؤها اللاقطبية في باطن الجزيء الكبروي.

تلعب الروابط الكهربية الراكدة (أو الملحية) والتآثرات الكارهة للماء وقوى فان در ڤالس أدواراً حيوية هامة في الحفاظ على البنية الجزيئية بما فيها بنية البروتينات.

يتفارق الماء ليشكل أيونات الهيدروكسيد والبروتونات المميهة بشدة والتي تمثل اتفاقاً بالبروتون المجرد (H^+). ويعبر مصطلح الباهاء (pH) (القيمة السالبة للوغاريتم تركيز أيونات الهيدروجين [H^+]) عن الأحماضة النّسبية حيث توحي انخفاضها بحموضة الوسط وارتفاعها بقلويته .

يعتبر الكيميائيون الحيويون أن الأحماض الكربوكسيلية (R-COOH) والأمينات ($R\text{-}NH_3^+$) هي أحماض، أما مستقبلات البروتون التابعة لها ($R\text{-}COO^-$ و $R\text{-}NH_2$) فيُطلَقُون عليها اسم أسسها (قواعدها) الانضمامية (القرينة). وتلعب هذه الأحماض الضعيفة دوراً هاماً في الأيض، ويعبر كمياً عن قوتها الحمضية النسبية بالمصطلح pK (القيمة السالبة للوغاريتم لثابتة تفارق الحمض) حيث تتناسب قيمها عكساً مع قوة الحمض (قيم أقل للأحماض الأقوى). وتتأثر هذه القيمة بالبنية الجزيئية للمركب حيث أن وجود مجموعات أخرى جاذبة للإلكترونات أو مانحة لها في الجزيء نفسه وبالقرب من المجموعة الحمضية سيغير حكماً من هذه القيمة، كما أن لتأثير ثابتة مخلل الكهرباء للوسط على قيم pK تأثيرات خاصة على قيم pK المجموعات المتفارقة الموجودة في الباطن غير القطبي نسبياً من البروتينات.

تقاوم الدوارئ تغير الباهاء (pH) عند إنتاج البروتونات أو استهلاكها، وتكون قدرة الدرء في أقصاها عند قيم الباهاء (pH) الواقعة في المجال p$K \pm 1$ وتتضمن الدوارئ الفيزيولوجية كلاً من البيكربونات والأورثوفسفات والبروتينات.

*** References:**

Segel IM *: Biochemical calculations*. Wiley, 1968.

Wiggins PM: *Role of water in some biological processes. Microbial Rev.* 1990;54:432.

الفصل الرابع

الأحماض الأمينية

Amino Acids

مقدمة:

من بين الوظائف العديدة التي تقوم بها الأحماض الأمينية (Amino acids) في الخلايا الحية يأتي عملها كموحودات (Monomers) تبنى منها السلاسل عديدة الببتيد (Polypeptides) المكونة للبروتينات التي يحتوي معظمها على نسب مختلفة من عشرين حمضاً أمينياً فقط تتميز بأنها من النوع المياسر ألفا(L- α - amino acids). كما تحتوي العديد من البروتينات النوعية على أحماض أمينية مشتقة من بعض هذه الأحماض العشرين بعمليات تتم بعد تشكيل الهيكل عديد الببتيد الأساسي، وتسمى الأحماض الأمينية غير الاعتيادية («غير المألوفة» أو «الاستثنائية») (Unusual amino acids)، وهي تقوم بوظائف متخصصة ونوعية جداً لهذه البروتينات.

إن أنواع الأحماض الأمينية وطرق ارتباطها والعلاقات الخاصة المتبادلة فيما بينها تحدد البنى ثلاثية الأبعاد للبروتينات البسيطة وخصائصها البيولوجية، وتشكل العوامل الأهم في تحديد بنى ووظائف البروتينات المعقدة التي تحتوي على الهيم أو السكريات أو الشحميات أو الأحماض النووية..إلخ.، بالإضافة للأحماض الأمينية.

سيهتم هذا الفصل بدراسة البنية والخصائص الفيزيائية والكيمياء الفراغية

والتفاعلات الكيميائية والتوازنات الأيونية للأحماض الأمينية المياسرة ألفا الموجودة في البروتينات. كما سيهتم بعرض طرائق الاستشراب (Chromatography) المستخدمة في فصل وتحليل الأحماض الأمينية والمركبات الأخرى ذات الأهمية البيولوجية.

الأهمية الطبية البيولوجية:

يجب أن يحتوي غذاء الإنسان على عشرة أحماض أمينية تسمى الأحماض الأمينية الأساسية (Essential amino acids) التي لا يستطيع الإنسان ولا الحيوانات العليا تصنيعها بكميات تكفي متطلبات النمو عند الأطفال والمحافظة على الصحة عند البالغين. وعندما تدخل الأحماض الأمينية في البروتينات فإنها تقوم بالعديد من الوظائف البنيوية والهرمونية والتحفيزية الضرورية لاستمرار الحياة. ولذلك فليس من المدهش أن تؤدي العيوب الوراثية في أيض هذه الأحماض إلى أمراض خطيرة حيث توجد العديد من الأدواء الوراثية النادرة الناجمة عن خلل في أيضها؛ كبيلة الفينيل كيتون (Phenylketonuria) وداء بول شراب القيقب (Maple syrup urine disease)، والتي إن لم تعالج ستؤدي إلى تخلف الطفل عقلياً وموته المبكر. كما أن هناك أمراضاً وراثية أخرى تنجم عن الخلل في نقل بعض الأحماض الأمينية إلى داخل الخلية، وبما أنها تؤدي إلى إفراغ واحد أو أكثر من الأحماض الأمينية في البول، فقد أطلقت عليها تسمية بيلات الأحماض الأمينية (Aminoacidurias).

كما تساهم الأحماض الأمينية ومشتقاتها في الوظائف الخلوية كالنقل العصبي وتنظيم نمو الخلية والتخليق الحيوي للبرفيرينات (Porphyrins) والبورينات (Purines) والبيريميدينات (Pyrimidines) واليوريا. ومن جهة أخرى، فإن فسفتة (Phosphorylation) الأحماض الأمينية السيرين والثريونين والتيروزين ونزع الفسفات منها يلعبان أدواراً مهمة في سبل التنبيغ الإشاري (Signal transduction) التي من خلالها تتواصل الخلايا مع البيئة المحيطة وتستجيب لتبدلاتها. وأخيراً توجد الأحماض الأمينية المياسرة ـ ألفا بشكل هرمونات ببتيدية منخفضة الوزن الجزيئي، كما توجد الأحماض الأمينية ألفا بنوعيها المياسر (L^-) والميامن (D^-) في المُضادات الحيوية عديدة الببتيد المطورة في الأحياء الدقيقة.

خصائص الأحماض الأمينية:

يحدد الراموز الجيني عشرين حمضاً أمينياً من النمط ألفا المياسر (ل ـ ألفا) :

يوجد في الطبيعة ما لا يقل عن 300 حمض أميني مختلف يشكل عشرون منها فقط الموحودات التي تدخل في بنية الهياكل الببتيدية المكونة للبروتينات. وعلى الرغم من الإمكانية الاحتمالية لترميز الراموز الجيني (Genetic code) ثلاثي الأحرف لأكثر من عشرين حمضاً أمينياً، إلا أن خاصية الفيض التي يتمتع بها الراموز الجيني العام (والتي سترد فوائدها في الفصل 40) تحدد هذه الإمكانية ليعطي روامز للأحماض الأمينية العشرين المذكورة في الجدول 4-1فقط. وبالتالي، فإن البروتينات تحتوي على نسب مختلفة من هذه الأحماض.

تحتوي بعض البروتينات الخاصة على أحماض أمينية إضافية:

بالإضافة إلى احتواء كل البروتينات على الأحماض الأمينية ـ ألفا العشرين نفسها بنسب مختلفة (الجدول 4-1)، فإن بعضها يحوي أحماضاً أمينية إضافية. وإذا استثنينا السيلينوسيستيين (Selenocysteine)، الذي ينشأ عن تعديل السيرين المرتبط بجزيء الرنا (RNA) النقال (انظر الفصل 30)، فإن هذه الأحماض الأمينية الإضافية تنشأ عن التعديل الكيميائي للأحماض الأمينية التي سبق إدخالها في الببتيد أو البروتين. وتتضمن هذه التعديلات على الأحماض الأمينية العشرين الشائعة في البروتينات، والتي تحدث بعد الترجمة (Posttranslation)، اشتقاق الزمرة الأمينية المطرافية (N-terminal) أو الكربوكسيلية المطرافية (C-terminal) والسلاسل الجانبية للأحماض الأمينية الموجودة في السلسلة الببتيدية.

ومن الأمثلة على ذلك نذكر تحويل البرولين والليسين في الببتيدات إلى 5 ـ هيدروكسي البرولين و 5 ـ هيدروكسي الليسين وتحويل الجلوتاميل (الجلوتامات في الببتيد) إلى جاما–كربوكسي جلوتاميل ومثيلة (إدخال جذر الميثيل)

(Methylation) وفـرملة (إقـحـام الفـورمـيل: Formylation) وأسـتلة (Acetylation) وإدخـال جـذر البـرينيل (Prenylation) وفسـفتـة المجـمـوعـات الوظيـفيـة للأحـمـاض الأمينية. ومن التعديلات بعد الترجمة التي لا يمكن كشفها بواسطة تقنيات السلسلة النموذجية نذكر تحول بعض الأحماض الأمينية من المصاوغ المياسر إلى المُصاوغ الميـمن (L- to D- isomers). تعـمل هـذه التـعـديلات جـمـيـعـهـا على زيادة التنوع البيولوجي للبروتينات بتغيير خصائصها الذوبانية واستقرارها وتوضعها في داخل الخليـة وتآثراتهـا مع البروتينات الأخرى للمشـاركة في شـبكات التـأشـير المرتبطة بالفسفتة (Phosphorylation signaling networks) (انظر الفصل 11).

تحتوي البروتينات على الأحماض الأمينية لـ ألفا فقط:

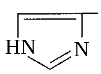
تحتوي الأحماض الأمينية على المجموعتين الوظيفيتين الكربوكسيلية الحمضية والأمينية اللتين ترتبطان كلاهما بذرة الكربون نفسها في الحمض الأميني من النوع ألفا (الشكل 4-1).

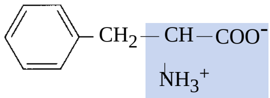
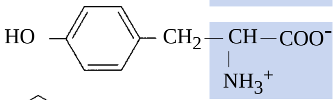
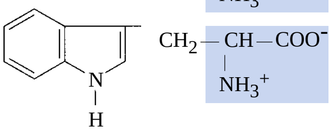
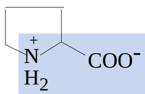
ويقال عن ذرة الكربون التي ترتبط بها أربع متبادلات مختلفة أنها غير متناظرة (Chiral)، وإذا استثنينا الجليسين، الذي تتألف سلسلته الجانبية من ذرة هيدروجين فقط (الشكل 4-1)، فإن المجموعات الأربعة المرتبطة بذرة الكربون ألفا مختلفة في كل من الأحماض الأمينية الباقية. ويمنح هذا التوجه رباعي الأذرع للمجموعات الوظيفية حول ذرة الكربون ألفا للحمض الأميني نشاطاً بصرياً (القدرة على تدوير مستوى الضوء المستقطب).

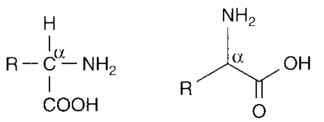
وعلى الرغم من أن بعض الأحـمـاض الأمينيـة الموجـودة في البـروتينات مـيـمنة (Dextrorotatory) وبعضـها الآخر أيسري التدوير (Levorotatory) في درجة باهاء (pH) = 7، فإن لها جميعاً نفس التهايؤ (Configuration) المطلق للجليسيرالدهيد المياسر (L-glyceraldehyde)؛ ولذلك فـهي تعـتبـر أحـمـاض أمـينيـة مـيـاسـرة ألفـا (L- α -amino acids).

الجدول 4-1 : الأحماض الأمينية ل ـ ألفا الموجودة في البروتينات.

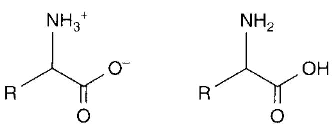
اسم الحمض الأميني بالعربية	اسم الحمض الأميني بالإنجليزية	الرمز	الصيغة البنيوية	pK_1	pK_2	pK_3
				الكربوكسيل ألفا	الأمين ألفا	السلسلة الجانبية
ذات سلاسل جانبية أليفاتية						
الجليسين	Glycine	Gly [G]	$H-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.4	9.8	
الألانين	Alanine	Ala [A]	$CH_3-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.4	9.9	
الڤالين	Valine	Val [V]	$(H_3C)_2CH-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.2	9.7	
اللوسين	Leucine	Leu [L]	$(H_3C)_2CH-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.3	9.7	
الأيزولوسين	Isoleucine	Ile [I]	$CH_3-CH_2-CH(CH_3)-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.3	9.8	
ذات سلاسل جانبية حاوية على الهيدروكسيل (-OH)						
السيرين	Serine	Ser [S]	$CH_2(OH)-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.2	9.2	13 تقريباً
الثريونين	Threonine	Thr [T]	$CH_3-CH_2(OH)-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.1	9.1	13 تقريباً
التيروزين	Tyrosine	Tyr [Y]				

اسم الحمض الأميني بالعربية	بالإنجليزية	الرمز	الصيغة البنيوية	pK_1	pK_2	pK_3
ذات سلاسل جانبية حاوية على ذرات الكبريت				الكربوكسيل ألفا	الأمين ألفا	السلسلة الجانبية
السيستين	Cysteine	Cys [C]	$CH_2-CH-COO^-$ (SH on CH_2; NH_3^+ on CH)	1.9	10.8	8.3
الميثيونين	Methionine	Met [M]	$CH_2-CH_2-CH-COO^-$ ($S-CH_3$ on first CH_2; NH_3^+ on CH)	2.1	9.3	
ذات سلاسل جانبية حاوية على مجموعات وظيفية حمضية أو أميداتها						
حمض الأسبارتيك	Aspartic acid	Asp [D]	$^-OOC-CH_2-CH-COO^-$ (NH_3^+ on CH)	2.0	9.9	3.9
الأسباراجين	Asparagine	Asn [N]	$N_2H-C-CH_2\ CH-COO^-$ (O double-bonded to C; NH_3^+ on CH)	2.1	8.8	
حمض الجلوتاميك	Glutalmc acid	Glu [E]	$^-OOC-CH_2-CH_2-CH-COO^-$ (NH_3^+ on CH)	2.1	9.5	4.1
الجلوتامين	Glutamine	Gln [Q]	$N_2H-C-CH_2-CH_2$ (OH on CH_2)	2.2	9.1	
ذات سلاسل جانبية حاوية على مجموعات وظيفية أساسية (قاعدية)						
الأرجينين	Arginine	Arg [R]	$H-N-CH_2-CH_2-CH_2-CH-COO^-$ ($C=NH_2^+$ on N, NH_2 on C; NH_3^+ on CH)	1.8	9.0	12.5
الليزين	Lysine	Lys [K]	$CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH-COO^-$ (NH_3^+ on first CH_2; NH_3^+ on CH)	2.2	9.2	10.8
الهيستيدين	Histidine	His [H]	 $CH_2-CH-COO^-$ (NH_3^+ on CH)	1.8	9.3	6.0

اسم الحمض الأميني بالعربية	بالإنجليزية	الرمز	الصيغة البنيوية	pK_1	pK_2	pK_3
الحاوية على حلقات آروماتية				الكربوكسيل ألفا	الأمين ألفا	السلسلة الجانبية
الهيستيدين	Histidine	His [H]				
الفينيل ألانين	Phenylalanine	Phe [P]		2.2	9.2	
التيروزين	Tyrosine	Tyt [Y]		2.2	9.1	10.1
التربتوفان	Tryptophan	Trp [W]		2.4	9.4	
أحماض الإيمينو						
البرولين	Proline	Pro [P]		2.0	10.6	



الشكل 1-4 : تمثيلان للحمض الأميني ألفا.



A B

الشكل 2-4 : البنية الصحيحة أيونياً لحمض أميني في الباهاء الفيزيولوجية أو ما يقاربها (أ) ؛ ولا يمكن أن توجد البنية غير المشحونة (ب) عند أي قيمة للباهاء (pH)، ولكن يمكن أن تستخدم لتسهيل مناقشة كيمياء الأحماض الأمينية.

توجد في الثدييات أحماض أمينية ميمنة حرة:

من المعروف أن جمائع (Pools) الأحماض الأمينية الحرة في الثدييات تحتوي على المصاوغات المياسرة (-L) بشكل أساسي، لكن المعلومات الحديثة تثبت وجود حمضين أمينيين حرين من النوع الميمن أيضاً وهما السيرين الميمن الموجود في الدماغ المقدم (Forebrain) والأسبارتات الميمن الموجود في الدماغ والمحيط. ومع أن الأحماض الأمينية الميمنة توجد في اللاثدييات بشكليها الحر والمرتبط بالببتيدات (أنظر الفصل 5)، فإن المصاوغات المياسرة من الأحماض الأمينية هي فقط الموجودة في البروتينات، والسبب في ذلك غير معروف حتى الآن ولكن هذه الانتقائية قد تكون نجمت عن حادث عرضي حصل خلال المراحل المبكرة من تطور الحياة على الأرض.

قد تكون الشحنة الإجمالية للحمض الأميني سالبة أو موجبة وقد تكون صفراً:

تحتوي الأحماض الأمينية في بنيتها على مجموعتين حمضيتين ضعيفتين قابلتين للتأين على الأقل (الكربوكسيل – "COOH" والأمين – "NH_3^+") ، ولكل منهما شكلان موجودان في توازن بروتوني وأحد هذين الشكلين يكون مشحوناً:

$$R\text{-}COOH \rightleftharpoons R\text{-}COO^- + H^+$$

$$R\text{-}NH_3^+ \rightleftharpoons R\text{-}NH_2 + H^+$$

وتشكل المجموعتان الوظيفيتان R-COOH و – NH_3^+ الجزء البروتوني أو الحمضي في هذه التوازنات، في حين تكون المجموعتين الأخريين هما الأسس أو القواعد الإنضمامية (المقترنة) أي مستقبلات البروتون. وبالرغم من كونهما أحماضاً ضعيفة، فإن الصفة الحمضية للزمرة الكربوكسيلية أقوى بكثير منها للزمرة الأمينية، ففي درجة باهاء (pH) البلازما (7.4) أو الحيز داخل الخلوي (7.1) تتأين كل الزمر الكربوكسيلية تقريباً (-R-COO) بينما تبقى معظم الزمر الأمينية بشكلها

البروتوني ($R-NH_3^+$)؛ ويجب علينا رسم صيغة الأحماض الأمينية الأيونية الغالبة في الدم والنسج كما هو موضح في الجزء «أ» من (الشكل 4-2)؛ ويطلق تعبير الكهارل المذبذبة (Zwitterions) على الجزيئات التي تحمل العدد نفسه من الزمر القابلة للتأين التي تحمل شحنات متعاكسة (أي أن الشحنة الإجمالية للجزيء مساوية للصفر). كما يجب الانتباه إلى أن الصيغة المرسومة في الجزء «ب» من (الشكل 4-2) لا يمكن أن توجد في أي قيمة للباهاء (pH)، وأنه في درجة الباهاء (pH) المنخفضة بما يكفي لتحويل الزمرة الكربوكسيلية إلى الشكل البروتوني، تكون الزمرة الأمينية حتماً في الشكل البروتوني.

وفي الواقع يكون 99 ٪ من أي حمض تقريباً بالشكل البروتوني عندما تكون قيمة باهاء (pH) الوسط أقل من قيمة pK_a الحمض بوحدتين (pK_a -2)، وعند رفع درجة الباهاء (pH) تدريجياً فإن البروتونات ستغادر الزمر الكربوكسيلية قبل الأمينية وقت طويل؛ كما أنه في درجة الباهاء (pH) المرتفعة بما يكفي لتتغلب نسبة الأساس الانضمامي للزمرة الأمينية، ستكون الزمرة الكربوكسيلية حكماً في شكلها الأيوني. ومع كل هذا، فإننا نستخدم الصيغة الموضحة في الجزء B من (الشكل 4-2) في العديد من التفاعلات التي لا تتضمن توازنات بروتونية.

تعبر قيمة الثابتة pK_a عن قوة الأحماض الضعيفة:

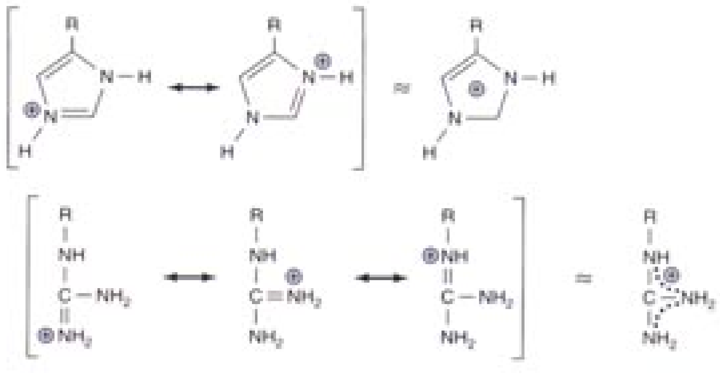
يعبر عن قوة الأحماض الضعيفة بواسطة ثابتة التفارق الحمضية K_a أو القيمة السالبة للوغاريتم هذه الثابتة (pK_a) الخاصة بكل حمض:

$$pK_a = -\log K_a$$

ويبين الجدول 4-1 قيم pK المجموعات الحمضية الضعيفة التي تحملها الأحماض الأمينية العشرون التي تدخل في بنية البروتينات، وللتسهيل فقد استخدمت اللاحقة التحتية (a) ولكنها ستهمل لاحقاً.

يبين (الشكل 4-3) الأشكال البروتونية لمجموعة الإيميدازول الموجودة في الهيستيدين ولمجموعة الجوانيدينو الموجودة في الأرجينين اللتين تكونان على شكل هجائن رنينية (متأرجحة) (Resonance hybrids) ويمكن، بالتالي، تمثيلهما كما هو موضح على يمين الشكل مع توزيع الشحنة الموجبة بين ذرتي النتروجين (الهيستيدين) أو الذرات النتروجينية الثلاث (الأرجينين).

تتعلق الشحنة الإجمالية للحمض الأميني (المجموع الجبري لكل الزمر ذات الشحنات السلبية والإيجابية الموجودة فيه) بدرجة باهاء (pH) الوسط المحيط أو بتركيز البروتونات فيه، وتسهل هذه الخاصية إمكانية تغيير شحنة الحمض الأميني بتغيير درجة الباهاء (pH) عملية الفصل الفيزيائي للأحماض الأمينية والببتيدات والبروتينات.



الشكل 4-3 : الهجائن الرنينية للأشكال البروتونية للمجموعات R من الهيستيدين والأرجينين.

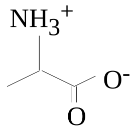
لا يحمل الحمض الأميني أية شحنة عند درجة الباهاء الكهرساوية (pI) أو المتساوية التكهرب (Isoelectric pH):

تمثل الأشكال الكهرساوية للأحماض الأمينية الأليفاتية (مثل الألانين) كما هو موضح في (الشكل 4-4)، وتعرف درجة الباهاء (pH) الكهرساوية على أنها درجة الباهاء (pH) المتوسطة بين قيم pK على طرفي الشكل الكهرساوي، ولا مجال لأي التباس في حسابها عندما يكون للحمض الأميني مجموعتين متفارقتين فقط، ففي الألانين مثلاً قيمة pK_1 (R-COOH) = 2.35 و pK_2 ($R\text{-}NH_2^+$) = 9.69 ، وبالتالي فإن قيمة الباهاء (pH) الكهرساوية (pI) تحسب كما يلي:

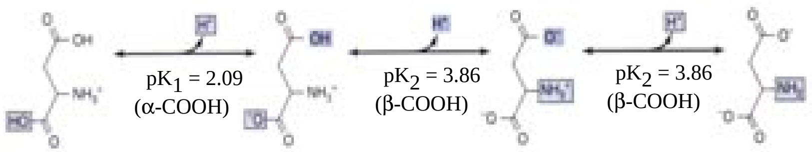
$$pI = \frac{pK_1 + pK_2}{2} = \frac{2.09 + 3.69}{2} = 6.02$$

أما حساب هذه القيمة في المركبات التي تحتوي على أكثر من مجموعتين متفارقتين فيحمل احتمالا أكبر للخطأ، فعلى سبيل المثال نطرح السؤال التالي: من خلال دراستك (للشكل 4-5)، ماذا يمكن أن تكون قيمة الباهاء (pH) الكهرساوية لحمض الأسبارتيك؟ للإجابة على هكذا تساؤل، ارسم أولاً كل الصيغ الأيونية الممكنة للمركب بالترتيب الذي يمكن أن توجد فيه مبتدئاً بالوسط شديد الأحماضة وحتى الوسط شديد القلوية (فمثلاً يكون ذلك بالنسبة لحمض الأسبارتيك كما هو موضح بالشكل 4-5)، ثم حدد الصيغة التي تمثل الشكل الكهرلي المذبذب (Zwitterion) الذي تكون عنده الشحنة الإجمالية مساوية للصفر (الشكل 4-5 ب) وتكون pI هي الباهاء (pH) الوسط بين قيمتي الـ pK على طرفي الشكل الكهرلي المذبذب، وفي مثالنا:

$$pI = \frac{pK_1 + pK_2}{2} = \frac{2.09 + 3.96}{2} = 3.02$$



الشكل 4-4 : البنية الكهرساوية أو متذبذبة التكهرب للألانين. ورغم كونه مشحوناً، فإن الشحنة الإجمالية للكهرل المذبذب تساوي الصفر، ولذلك لا تتحرك عند تطبيق تيار كهربي مباشر.



في محلول قاعدي قوي (باهاء أكبر من 11)؛ الشحنة الصافية = -2

قيمة باهاء بين 6 و 8 ؛ الشحنة الصافية = -1

قيمة باهاء قريبة من 3 ؛ الشحنة الصافية = 0

في حمض قوي (باهاء أقل من 1)؛ الشحنة الصافية = +1

الشكل 5-4 : التوازنات البروتونية لحمض الأسبارتيك.

ويمكن تطبيق هذا الأسلوب أيضاً على الأحماض الأمينية الحاوية على مجموعات تفارقية أكثر كالليسين أو الهيستيدين، فبعد أن تكتب كل الصيغ المشحونة الممكنة للحمضين الأمينيين الليسين والأرجينين لاحظ أن:

$$pI = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

فتجد أن pI الأرجينين تساوي 9.7 و pI الليسين تساوي 10.8، وعلى الطالب حساب قيمة pI الهيستيدين.

ولا تقتصر طريقة تحديد قيم p*K* على جانبي الكهرل المذبذب بتفحص الصيغ المشحونة على الأحماض الأمينية، بل يمكن تطبيقه لحساب شحنة الجزيئات الحاوية على أي عدد من الزمر المتفارقة. ولهذه الإمكانية أهميتها في المختبرات السريرية حيث يسمح بتوقع حركية المركبات في الحقول الكهربية وباختيار الدوارئ المناسبة لعمليات الفصل؛ فعلى سبيل المثال ستفصل الدارئة ذات الباهاء (pH) = 7.0 أي جزيئين قيمة pI الخاصة بهما تساوي 6 و 8 على التوالي لأن الجزيء الأول (6-pI) سيحمل شحنة سلبية أكبر بكثير من تلك التي سيحملها الجزيء الثاني في درجة باهاء (pH) = 7.0 ويمكن تطبيق الأمر نفسه لفهم طرق الفصل على الدعامات الأيونية (Ionic supports) كالمكاثير ذات الشحنة السالبة أو الموجبة (مثال: السلولوز DEAE والراتين دويكس 1 (Dowex 1 resin)).

تختلف قيم p*K* حسب البيئة المحيطة:

تعبر قيم الـ p*K* المُدرجة في (الجدول 4-1) عن قيمتها في حالة الأحماض الأمينية الحرة الموجودة في الوسط المائي، وهي بذلك تقدم لنا دليلاً تقريبياً فقط عن قيم p*K* للأحماض الأمينية الموجودة في البروتينات، والسبب في ذلك يعود إلى حقيقة أنّ البيئة المحيطة بأي مجموعة قابلة للتفارق تؤثر في قيمة p*K* الخاصة بهذه المجموعة؛ فمن أجل الزوج المقترن حمض ـ أساس، تدعم الأوساط القطبية وجود الشكل

المشحون منه (مثال: -R-COO أو $R\text{-}NH_3^+$) بينما تدعم الأوساط الأقل قطبية الشكل غير المشحون منه (مثال: R-COOH أو $R\text{-}NH_2$)، وبالتالي فإن الأوساط القطبية ترفع قيمة p*K* الزمرة الكربوكسيلية وتخفض قيمة p*K* الزمرة الأمينية. ومن جهة أخرى، يؤثر وجود مجموعات مشحونة مجاورة أيضاً على قيم الـ p*K*، ويمكن لهذا التأثير أن يدعم تأثير المذيب أو يعاكسه. وكنتيجة لكل ذلك، فإن قيمة p*K* الخاصة بمجموعة وظيفية معينة ستختلف من بروتين إلى آخر وضمن البروتين نفسه أيضاً (حسب مكان توضعها)، وقد تشمل هذه الاختلافات كل وحدات الباهاء (pH) أو عدداً منها أحياناً. ويُدرج الجدول 4-2 المجال النموذجي لقيم p*K* الخاصة بالمجموعات الوظيفية القابلة للتفارق (التشرد) الموجودة في الأحماض الأمينية المكونة للبروتينات علماً أنه يمكن مصادفة قيم p*K* تختلف عن هذه القيم النموذجية بمقدار 3 وحدات باهاء (pH) في المواقع الفعالة للإنزيمات. ونذكر هنا مثالاً شديد الوضوح على ذلك ألا وهو قيمة باهاء (pH) حمض الأسبارتيك المنظمر في الثيوردوكسين والمساوية للقيمة 9 بانحراف يزيد عن 6 درجات باهاء (pH)!!

المجموعة المتفارقة	مجال p*K*
الكربوكسيل ألفا	4.0 - 3.5
الكربوكسيل الآخر للأسبارتات والجلوتامات	4.8 - 4.0
إيميدازول الهيستيدين	7.4 - 6.5
سلفهيدريل (SH) السيستيين	9.0 - 8.5
هيدروكسيل التيروزين	10.5 - 9.5
الأمين ألفا	9.0 - 8.0
الأمين إيبسلون (ε-Amine) في الليزين	10.4 - 9.8
جوانيدينو الأرجينين	12.0 ~

الجدول 4-2 : المجال النموذجي لقيم p*K* المجموعات القابلة للتفارق في البروتينات.

ذوبانية الأحماض الأمينية ودرجة انصهارها هي انعكاس لخاصيتها الأيونية (الأيونية):

بما أن الأحماض الأمينية تحمل عدة مجموعات مشحونة، فهي بطبيعة الحال مذابة في المذيبات القطبية كالماء والإيثانول ولكنا غير مُذابة في المذيبات غير القطبية كالبنزين والهكسان والإيثر. ومن جهة أخرى، يعكس ارتفاع قيمة درجة حرارة انصهار الأحماض الأمينية (أكثر من 200 درجة مئوية) مدى ارتفاع قيمة الطاقة اللازمة لخلخلة القوى الأيونية (الأيونية) التي تعمل على استقرار الشبكة البلورية وتثبيتها.

يمكن تصنيف الأحماض الأمينية بالاعتماد على قطبية مجموعاتها الوظيفية:

يمكن تقسيم الأحماض الأمينية الموجودة في البروتينات إلى مجموعتين رئيستين اعتماداً على كون السلسلة الجانبية R المرتبطة بذرة الكربون ألفا (الجدول 4-3) قطبية أو لا قطبية. ونستخدم اختصارات تسمية الأحماض الأمينية ذات الحرف الواحد (الجدول 4-1) لتمثيل متتالية طويلة من الأحماض الأمينية (مثل تمثيل التسلسل الكامل للأحماض الأمينية المكونة لبروتين ما). وتقوم بعض الأحماض الأمينية الحرة أو المرتبطة (لكن خارج البروتينات) بوظائف مهمة في العمليات الأيضية؛ وعلى سبيل المثال يشارك كل من الأورنيثين (Ornithine) والسيترولين (Citrulline) والأرجينينوسكسينات (Argininosuccinate) في تشكيل اليوريا، والتيروزين في تشكيل الهرمونات الدرقية، والجلوتامات في التخليق الحيوي للنواقل العصبية (Neurotransmitters).

يوجد في الطبيعة أكثر من عشرين حمضاً أمينياً ميمنا (D-amino acids) نذكر منها الألانين الميمن والجلوتامات الميمن الموجودين في الجدار الخلوي لبعض البكتريا والعديد من الأحماض الميمنة المتنوعة الأخرى الموجودة في المضادات الحيوية.

الكارهة للماء	المسترطبة (الأليفة للماء)
الألانين	الأرجينين
الإيزولوسين	الأسباراجين
اللوسين	حمض الأسبارتيك
الميثيونين	السيستئين
الفينيل ألانين	حمض الجلوتاميك
البرولين	الجلوتامين
التريبتوفان	الجليسين
التيروزين	الهيستيدين
الڤالين	الليزين
	السيرين
	الثريونين

الجدول 4-3 : تصنيف الأحماض الأمينية ل – ألفا الموجودة في البروتينات اعتماداً على ألفتها للماء (hydrophilicity) (أي ميلها للاتحاد مع الماء) أو نفورها منه (hydrophobicity) أي ميلها تجنب الماء بهدف الحفاظ على بيئة أكثر لاقطبية (nonpolar).

تحدد المجموعة R خصائص كل حمض أميني:

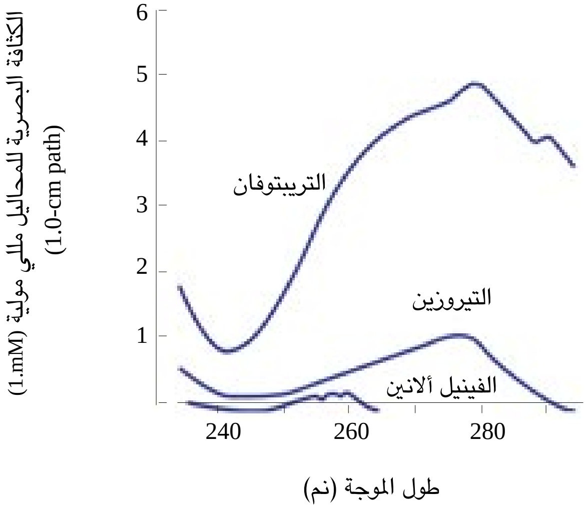
يمكن للجليسين بوصفه أصغر حمض أميني أن يوجد في مناطق من البنية ثلاثية الأبعاد للبروتين لا يستطيع غيره من الأحماض الوصول إليها، ولذلك فهو يوجد عادة في مناطق الانثناء الحاد للبروتين.

كما هو واضح في (الجدول 4-3)، فإن الزمر الأليفاتية R في كل من الألانين والڤالين واللوسين والإيزولوسين والحلقية في كل من الفينيل ألانين والتيروزين والتريبتوفان كلها كارهة للماء (Hydrophobic) ولأن ذوبان هذه الأحماض الأمينية سيحضر الماء إلى محيطها، فموقعها النموذجي هو في باطن بروتينات العصارة الخلوية (Cytosolic proteins).

أما الزمر المشحونة الموجودة في الأحماض الأمينية الحمضية والقاعدية فتعمل على استقرار هيئات (Conformations) بروتينية معينة عن طريق التآثرات الأيونية أو الروابط الملحية؛ فعلى سبيل المثال، تترافق أكسجة (Oxygenation) الهيموجلوبين ونزع الأكسجين منه (Oxygenation) مع تمزق الروابط الملحية وإعادة تشكيلها (انظر الفصل السابع). وبالإضافة لذلك، توظف الزمر R المشحونة سلباً أو إيجاباً في أنظمة «الترحيل التتابعي للشحنة» (Charge relay) التي تنقل الشحنات عبر مسافات كبيرة خلال التحفيز الإنزيمي وخلال نقل الإلكترونات في السلسلة التنفسية في المتقدرات. وأخيراً، يلعب الهيستيدين أدواراً خاصة ومميزة في التحفيز الإنزيمي حيث تسمح قيمة pK بروتون الإيميدازول بأن يعمل الهيستيدين كمحفز (Catalyst) حمضي أو قاعدي في درجة باهاء (pH) = 7.0.

ونننتقل إلى زمر أخرى كالزمرة الكحولية الأولية في السيرين والزمرة الكحولية الكبريتية الأولية (SH-) في السيستيين. كلاهما أليفتان للنوى (Nucleophiles) ويمكن أن تعملا على حالتهما هذه خلال عملية التحفيز الإنزيمي. وبالمقابل، ورغم كونها أليفة للنوى أيضاً، فإنه غير معروف عن زمرة الكحول الثانوية للتيروزين أنّها تلعب هذا الدور خلال عملية التحفيز الإنزيمي. ونضيف هنا الدور الذي يلعبه كل من السيرين والتيروزين والثريونين في تنظيم نشاط إنزيمات معينة يتعلق نشاطها التحفيزي بفسفتة بعض ثمالات (Residues) الأمينوأسيل الهيدروكسيلية ونزع الفسفات منها.

وفيما يتعلق ببعض الخصائص الفيزيائية نذكر هنا أن الأحماض الأمينية لا تمتص الضوء المرئي (ولذا فهي عديمة اللون)، وأنها لا تمتص الأشعة فوق البنفسجية ذات الموجات التي يزيد طولها عن 240 نانومتر، ويستثنى من ذلك الأحماض الأمينية الأروماتية: التريبتوفان والفينيل ألانين والتيروزين والهيستيدين التي تمتص، وخاصة الحمض الأول، الأشعة فوق البنفسجية ذات الموجات الطويلة (من 250 إلى 290 نانومتر) (الشكل 4-6). وعلى الرغم من عدم شيوعه نسبياً في معظم البروتينات، فإن التريبتوفان هو المسؤول الأكبر عن قابلية معظم البروتينات لامتصاص الضوء عند الموجة ذات الطول 240 نانومتر.



الشكل 6-4 : أطياف امتصاص الأشعة فوق البنفسجية للتريبتوفان والتيروزين والفينيل ألانين.

هناك العديد من التقنيات المختلفة التي تستخدم لفصل الأحماض الأمينية:

يجب الانتباه أولاً إلى أن تقنيات الاستشراب الموصوفة أدناه تستخدم في فصل أنواع كثيرة ومتنوعة من المواد وليست، بأي حال من الأحوال، حكراً على الأحماض الأمينية ومشتقاتها. وبالرغم من حلول العديد من تقنيات التحليل الاستشرابية الأحدث والأفضل مكان الاستشراب على الورق والاستشراب الآلي بتبادل الأيونات، فإن المبادئ العامة بقيت متضمنة بشكل عام وبقي لكل من هذه التقنيات استخداماتها في الأبحاث الطبية.

الاستشراب (الكروماتوغرافيا) (Chromatography):

تتوزع الجزيئات في كل طرق الفصل الاستشرابي بين طورين أحدهما متحرك والآخر ثابت، ويعتمد الفصل على الميل النّسبي الذي تبديه الجزيئات في المزيج للارتباط بأحد هذين الطورين بشدة أكبر من ميلها للارتباط بالطور الآخر.

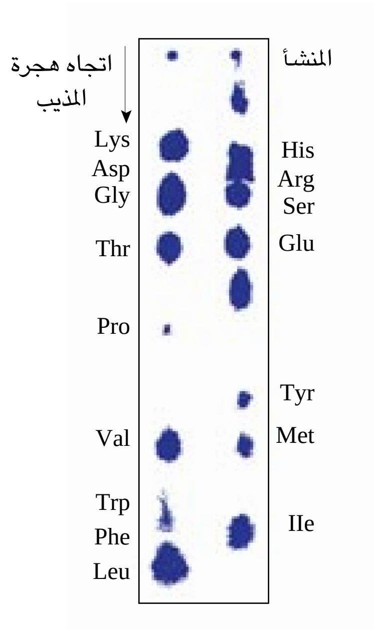
الاستشراب الورقي (Paper chromatography):

تطبق هذه التقنية بوضع قطرة من المحلول الحاوي على الأحماض الأمينية على بعد 5 سم تقريباً من نهاية شريط ورق الترشيح (Filter paper)، ثم يوضع الشريط في وعاء مغلق بحيث تلامس نهايته المُذيب (غالباً ما يكون المذيب النموذجي كحولاً ذا وزن جزيئي منخفض ومشبعاً بالماء وحاوياً على حمض أو أساس)؛ وبعد هجرة المذيب عبر الورقة، يتم تجفيف الشريط ثم معالجته بالنينهيدرين المحلول بالأسيتون وتسخينه لفترة قصيرة فتظهر مواقع الأحماض الأمينية كبقع أرجوانية (الشكل 4-7). وتملي القطبية النسبية الاستشرابية ، فتتحرك الأحماض الأمينية ذات الزمر "R" غير القطبية الطويلة (كاللوسين والإيزولوسين والفينيل ألانين والتريبتوفان والڤالين والميثيونين والتيروزين) إلى مسافات أبعد من تلك التي تقطعها الأحماض ذات الزمر "R" غير القطبية القصيرة (كالألانين والبرولين) أو الأحماض ذات الزمر "R" القطبية (كالجلوتامات والثريونين والسيرين والأرجينين والأسبارتات والهيستيدين والليسين والسيستَيين) (الشكل 4-7).

وفيما يتعلق بمجموعة الأحماض غير القطبية (كالجليسين واللوسين والڤالين والألانين)، فإن زيادة طول الزمرة "R" غير القطبية الذي يزيد من الطابع غير القطبي يؤدي إلى زيادة مدى الحركة.

تعبر القيمة R_f (التحرك نسبة إلى مقدمة المذيب) عن نسبة المسافة المقطوعة من قبل الحمض الأميني إلى المسافة المقطوعة من قبل المذيب، وتختلف قيم R_f الخاصة بحمض أميني معين باختلاف ظروف التجربة (مثل اختلاف المذيب المستخدم). ولعله

من المفضل إجراء عملية الاستشراب لشواهد معيارية من الحمض الأميني المعروف مع المجهول في الوقت نفسه بحيث يتم التعبير عن مدى تحرك المجهول نسبة إلى الشاهد، ويكون مقدار التغير في هذه القيمة من تجربة إلى أخرى أقل من مدى تغير قيم R_f.



الشكل 4-7 : تمييز الأحماض الأمينية الموجودة في البروتينات. بعد تطبيق الاستشراب النازل على الورق في المحلول المكون من البيوتانول وحمض الأسيتيك والماء، يتم إظهار البقع بالنينهيدرين.

استشراب الطبقة الرقيقة:

يوجد نمطان متميزان من استشراب الطبقة الرقيقة (Thin-layer chromatography [TLC]) هما استشراب الطبقة الرقيقة التقاسمي (Partition TLC [PTLC]) واستشراب الطبقة الرقيقة الامتزازي (Adsorption TLC [ATLC]) يتضمن الفصل بواسطة النمط الأول تقسيم عناصر المزيج بين طورين سائلين مختلفين في القطبية بشكل يمر فيه الطور المتحرك فوق الطور الثابت وينجم الفصل عن اختلاف مدى ذوبانية عناصر المزيج في هذين الطورين.

استشراب الطبقة الرقيقة التقاسمي العادي :

وفيه يكون الطور الثابت هو الأكثر قطبية ويحتوي المذيب على عناصر قطبية وأخرى لا قطبية ضعيفة (الماء + كحول مكون من 4-5 ذرات كربون + حمض أو أساس ضعيف كحمض الأسيتيك أو الأمونيا). ويتغير تركيب المذيب خلال مروره على الدعامة (الطور الثابت) لأن العناصر الأكثر قطبية ستتحد مع زمر الهيدروكسيل القطبية في السيلولوز ، وبذلك تزداد لاقطبية مقدمة المذيب تدريجياً. ونستنتج من ذلك أن عناصر المزيج غير القطبية تتحرك لمسافة أكبر من تلك التي تقطعها عناصره الأكثر قطبية حتى إن تساوت في المقاس؛ فمثلاً تعاق حركة الجلوتامات والليسين بينما يتحرك اللوسين والڤالين. وأخيراً، تنطبق الاعتبارات السابقة نفسها على الاستشراب الورقي.

استشراب الطبقة الرقيقة التقاسمي المعكوس الطور:

وتكون فيه قطبية الطورين وحركية عناصر المزيج على عكس ما هي عليه في النمط العادي المذكور أعلاه، حيث يشكل الطور المتحرك طوراً قطبياً بينما يكون الطور الثابت طوراً لا قطبياً ويتكون عادة من السيلولوز المبطن بطبقة من سائل لا قطبي كزيت السيليكون. ومن ناحية أخرى، فإن العناصر القطبية من المزيج تتحرك مع المذيب في حين تُعاق حركة العناصر غير القطبية.

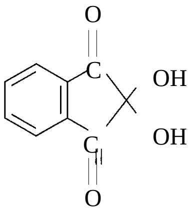
استشراب الطبقة الرقيقة الامتزازي:

يختلف مبدأ الفصل كلية هنا، فهو يتضمن امتزاز عناصر المزيج على هلامة السيليكا (Silica gel) المعرضة سابقاً للحرارة حتى التخلص من كل جزيئات الماء المرتبطة بها. ويتكون الطور المتحرك من مذيب عضوي واحد أو اثنين ويقوم بإزاحة المكونات الممتزة بالتنافس معها على مواقع الارتباط على الهلامة. وتزاح العناصر الأقل ارتباطاً أولاً مما ينتج عنه عملية الميز (Resolution).

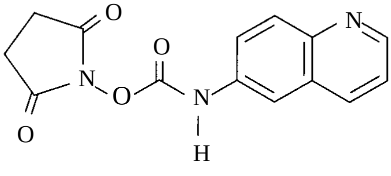
الاستشراب السائل الرَفيع الإنجاز (HPLC) :

إن تقنيات الاستشراب على العمود (Column chromatography [CC]) التقليدية تستخدم عادة عموداً زجاجياً مبطناً بداعم قابل للانضغاط مما لا يسمح باستخدام الضغوط العالية ويفرض حداً أعلى لمعدل جريان المذيب وبالتالي على سرعة التحليل؛ أما الاستشراب السائلي الرفيع الإنجاز (High performance liquid chromatography [HPLC]) فيمثل تطويراً معتمداً على المبادئ نفسها للاستشراب على العمود. يستخدم في هذه التقنية عواميد من مادة الفولاذ المقاوم للصدّأ (Stainless steel) مبطنة بداعم غير قابل للانضغاط مكون من جزيئات صغيرة ومتجانسة يؤدي وظيفة التبادل الأيوني أو المنخل الجزيئي أو التآثرات الكارهة للماء. ويؤدي تطبيق الضغط العالي (100,000-50,000 ضغط جوي) إلى إنقاص الزمن اللازم للميز (Resolution) (الفصل) من عدة ساعات إلى عدة دقائق، مما ينْقص من مدى الانتشار الجانبي ويؤمن فصلاً (ميزاً) محسناً بامتياز . ويتوفر للباحث أسلوبان تحليليان حيث يمكن للأحماض الأمينية أن تتفاعل مع كاشف يسهل كشفها وتحديد كميتها قبل HPLC أو بعده. وتستخدم عادة في تقنية الكشف التالية لـ HPLC مادة النينهيدرين (Ninhydrin) (الشكل 4-8) التي تشكل بقعاً أرجوانية بتفاعلها مع الأحماض الأمينية، لكن هذه التقنية قد استبدلت بتفاعل الحمض الأميني، خلال عملية الاستشراب الفائق الإنجاز، مع كاشف مثل 6– أمينو كينوليل ـ ن ـ هيدروكسي سكسينيميديل الكربمات الذي يختصر بـ AQC (6-aminoquinolyl-*N*-hydroxysuccinimidyl carbamate) (الشكل 4-9) والذي

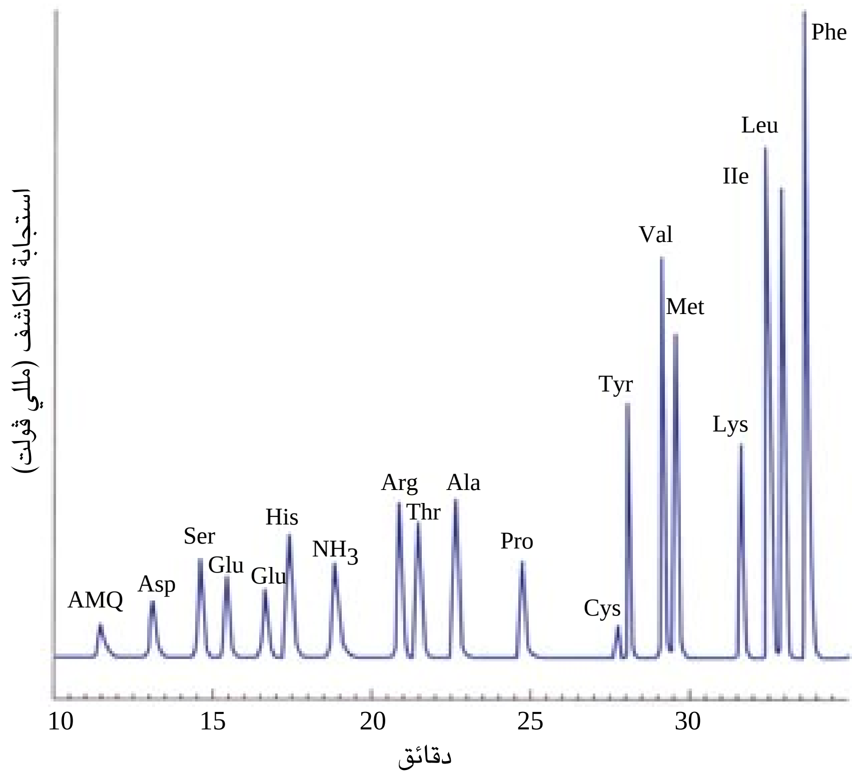
يشكل مشتقات متألقة (Fluorescent) للأحماض الأمينية تتميز بقدرها على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية. ونذكر أخيراً أن حساسية تقنية ما قبل العمود (Pre-column) تسمح بتحليل كميات من المادة تقدر بالبيكومول (عادة 1-2 مكروجرام من البروتين المنقى أو 0.2 مكروجرام من الببتيدات القصيرة) (الشكل 4-10).



الشكل 4-8 : النينهيدرين.



الشكل 4-9 : 6 – أمينو كينوليل – N– هيدروكسي سوكسينيميديل الكربامات (AQC).



الشكل 4-10 : الاستشراب السائلي رفيع الكفاءة بالطور المعكوس لمشتقات 6 – أمينو كينوليل – ن – هيدروكسي سوكسينيميديل الكربامات (AQC) مع الأحماض الأمينية.

الرحلان الكهربي عالي الفولطاج:

يوجد في الكيمياء الحيوية العديد من التطبيقات القائمة على تقنيات فصل الأحماض الأمينية وعديدات الببتيد والكهارل المذبذبة الأخرى (Ampholytes) (أي الجزيئات التي تعتمد شحنتها الإجمالية على درجة باهاء pH الوسط المحيط) في حقل تيار كهربائي مباشر. وبالنسبة للأحماض الأمينية، فإننا نستخدم عادة صفائح ورقية أو طبقات رقيقة من السلولوز الناعم كدعامة (Support)، أما في حالة فصل عديدات الببتيد والبروتينات فنستخدم هلامة عديد الأكريلاميد المتشابكة (Cross-linked) كدعامة. وأما بالنسبة لمكاثير النوكليوتيد قليلة التعدد فلدينا خياران يمكن استخدامهما كداعمة وهما عديد الأكريلاميد والأجاروز (Agarose).

ويعتمد الفصل في هذه التقنية على كل من قوة التيار الكهربي المطبق في الحقل والشحنة الإجمالية للكهرل المذبذب والوزن الجزيئي للمركبات الخاضعة لعملية الفصل. ففي حالة تطابق الشحنة بين الجزيئات، تجري الجزيئات ذات الوزن الجزيئي الأصغر بسرعة أكبر، ومع ذلك تبقى الشحنة الإجمالية هي العامل الأهم في عملية الفصل هذه والتي تشمل تطبيقاتها كلاً من الأحماض الأمينية وعديدات الببتيد ذات الوزن الجزيئي المنخفض والنكليوتيدات والسكاكر المفسفتة.

أما عن الطريقة، فتوضع العينة على الداعم الذي يرطب بعد ذلك بدارئة ذات باهاء (pH) مناسبة ويوصل إلى مخازن الدارئة بفتائل ورقية. وبعد اختيار درجة الباهاء (pH) المناسبة (التي تحددها قيم p*K* المجموعات التفارقية الموجودة في جزيئات المزيج)، يطبق التيار الكهربي، فتتحرك الجزيئات ذات الشحنة الإجمالية السالبة باتجاه المصعد (Anode) بينما تتحرك الجزيئات ذات الشحنة الإجمالية الموجبة باتجاه المهبط (Cathode).

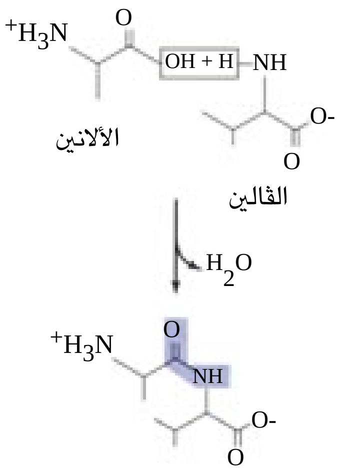
تحدد التفاعلات الكيميائية للأحماض الأمينية من قبل مجموعاتها الوظيفية:

تمتلك الأحماض الأمينية، كما أسلفنا، على مجموعات وظيفية هي المجموعات الوظيفية الكربوكسيلية ألفا والأمينية ألفا وتلك الموجودة في السلاسل الجانبية R. وتحدد هذه الوظائف نمط التفاعلات الكيميائية التي تدخلها الأحماض الأمينية،

حيث يمكن لكل من هذه الوظائف أن تشارك في كل التفاعلات الكيميائية المميزة لها. وتشتمل هذه التفاعلات على تفاعلات الزمرة الكربوكسيلية كالتأين وتشكيل الأميدات والإسترات وبلاماء الأحماض (أنهيدرات) (Acid anhydride). كما تضم أيضاً تفاعلات تأين وأسترة وأسيلة الزمرة الأمينية، وأكسدة وألكَلَة (Alkylation) زمر السلفهيدريل (SH-)، وأسترة الزمرة الهيدروكسيلية (OH-) ..إلخ.

يعد تشكيل الروابط الببتيدية أهمّ تفاعلات الأحماض الأمينية :

يتضمن تشكيل الروابط الببتيدية، من حيث المبدأ، نزع جزيئ واحد من الماء من مجموعة الكربوكسيل ألفا في أحد الأحماض الأمينية ومجموعة الأمين ألفا في حمض أميني آخر (الشكل 4-11). ومع ذلك، فالتفاعل لا يسير كما هو مكتوب لأن ثابتة التّوازن تدعم بشدة حلمهة الرابط الببتيدي، ولتخليق الروابط الببتيدية لابد من تنشيط الزمرة الكربوكسيلية أولاً؛ ويتم ذلك كيميائياً بتحويلها إلى كلوريد حمضي، أما في الجمل البيولوجية فيتم بالتكثيف مع الأدينوزين ثلاثي الفسفات (ATP) وتشكيل أمينو أسيل الأدينيلات (Aminoacyl adenylate).



الشكل 4-11 : حمضان أمينيان مرتبطان برابطة ببتيدية (الجزء المظلل).

الخلاصة:

على الرغم من وجود أحماض أمينية ميمنة (D-amino acids) وأخرى ليست من النوع ألفا في الطبيعة، فإن البروتينات تحتوي على أحماض أمينية من النوع المياسر ألفا فقط (L-α-amino acid). وتملك كل الأحماض الأمينية زمرتين وظيفتين حمضيتين ضعيفتين على الأقل (R-COOH و $R-NH_3^+$) ترتبطان، في الأحماض المكونة للبروتينات، مع ذرة الكربون ألفا. تتسبب هاتان الوظيفتان، بالمشاركة مع بقية الزمر الحمضية الضعيفة الأخرى (الهيدروكسيل والسلفهدريل والجوانيدينو والإيميدازول)، بتغيرات في الشحنة الإجمالية للحمض الأميني عند تغير درجة الباهاء (pH). وبهذا المعنى، فالأحماض الأمينية هي عبارة عن كهارل مذبذبة تتعلّق شحنتها الصافية (الإجمالية)، في درجة باهاء (pH) معينة، بقيم p*K* مجموعاتها الوظيفية؛ وتمثل القيمة pI درجة الباهاء (pH) التي تكون الشحنة الإجمالية للحمض عندها مساوية للصفر، وبالتالي لا يتحرك الحمض في حقل التيار الكهربي المباشر.

وبالإضافة إلى تدخلها في الشحنة الإجمالية للحمض الأميني ومساهمتها في تحديد أنماط التفاعلات التي يدخلها (وأهمها تشكيل الرابطة الببتيدية)، تمنح الزمر "R" لكل حمض أميني بعض الوظائف الكيميائية الحيوية الخاصة، وتشكل أساساً يسمح بتصنيف الأحماض الأمينية كأحماض قاعدية وحمضية وأليفاتية وأروماتية وحاوية على الكبريت.

وأخيراً، يمكن لنا أن نكشف عن الأحماض الأمينية ونحدد كميتها من خلال تفاعلها مع النينهيدرين بعد فصلها من المزيج بواسطة الاستشراب التقاسمي أو الاستشراب بتبادل الأيونات.

*** References:**

Cohen SA, Michaud DP: Synthesis of a fluorescent derivatizing reagent, 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate, and its application to the analysis of hydrolysate amino acids via high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 1993;211:279.

Langsetmo K et al: The conserved, buried aspartate in oxidized *Escherichia coli* thioredoxin has a p*K* of 7.5. *Biochemistry* 1991;30:7603.

Ozols J: Amino acid analysis. *Methods Enzymol* 1990; 182:587.

Stellwagen E: Gel filtration. *Methods Enzymol* 1990; 182:317.

Wilson NA et al: Aspartic acid 26 in reduced *Escherichia coli* thioredoxin has a p*K* of 7.5. *Biochemistry* 1995;34:8931.

الفصل الخامس

الببتيدات

Peptides

مقدمة:

تشكل بلمرة الأحماض الأمينية بواسطة الروابط الببتيدية الهيكل البنيوي للبروتينات. سنتحدث في هذا الفصل عن ميزات الرابط الببتيدي وخصائص الببتيدات وطرق تحديد البنية الأولية لها وللبروتينات وطرق تصنيع الببتيدات.

الأهمية الطبية البيولوجية:

تختص الببتيدات بأهمية طبية حيوية هائلة وخاصة في مجال علم الغدد الصم (Endocrinology)، فالعديد من الهرمونات هي عبارة عن ببتيدات ويمكن إعطاؤها كعلاج للمرضى الذين يعانون من عوزها (مثل إعطاء الإنسولين لمرضى السكري). كما تعمل بعض الببتيدات في الجملة العصبية إما كنواقل أو كمعدلات عصبية. وتصنع الزراقم (Cyanobacteria) نوعين من الببتيدات: المكروسيستينات (Microcystins) والنوديولارينات (Nodularins) ولهما تأثير قاتل بكمياتهما الكبيرة أما الكميات القليلة منهما فتعزز إمكانية حدوث الأورام الكبدية. ومن جهة أخرى، فإن بعض المضادات الحيوية (كالفالينوميسين والجراميسيدين A) والقليل من العوامل المضادة للأورام (كالبليوميسين) هي ببتيدات. ويعمل ثنائي الببتيد، الأسبارتام، كمحل للعديد من المشروبات.

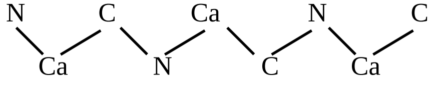
وقد سهل التصنيع الكيميائي السريع وتقنية الدنا المأشوب (Recombinant DNA technology) عمليةَ تصنيع كميات معقولة من الهرمونات الببتيدية التي يوجد العديد منها في الجسم بكميات قليلة جدا يصعب معها عزل هذه الهرمونات بكميات تكفي للعلاج. كما تسمح التقنية نفسها بتصنيع كميات كبيرة من الببتيدات المستخدمة في اللقاحات (Vaccines) والموجودة أيضاً في الطبيعة بكميات قليلة جداً (مثل بعض الببتيدات والبروتينات الڤيروسية).

تتشكل الببتيدات من ارتباط الأحماض الأمينية المياسرة ـ ألفا بالروابط الببتيدية:

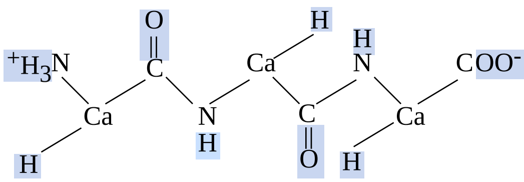
يظهر (الشكل 5-1) ثلاثي الببتيد المكون من الألانين والسيستيين والڤالين. لاحظ أن ثلاثي الببتيد مكون من ثلاث ثمالات (أحماض أمينية) (Residues) وليس من ثلاثة روابط ببتيدية. وقد اتُّفِق على كتابة بنية الببتيد بحيث تكون الثمالة الأمينية المطرافية (الثمالة التي تكون فيها الزمرة الأمينية ألفا حرة) على اليسار والثمالة الكربوكسيلية المطرافية (الثمالة التي تكون فيها الزمرة الكربوكسيلية ألفا حرة) على اليمين. يحتوي هكذا ببتيد على زمرة أمينية ألفا واحدة حرة و زمرة كربوكسيلية ألفا واحدة حرة، ومع ذلك قد تكون إحدى هاتين الزمرتين في بعض الببتيدات مشتقة (مثل ن ــ فورميل أمين أو أميد الزمرة الكربوكسيلية) وهي، بالتالي، ليست حرّة.

من السَهل رسم البِنى الببتيدية:

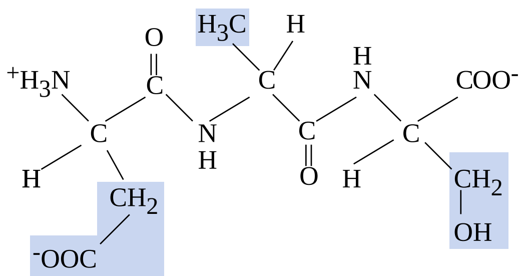
اتفق على رسم الببتيدات بحيث تكون النهاية الأمينية على يسار الصفحة والنهاية الكربوكسيلية على يمينها. ولتوضيح البنى الببتيدية، أرسم أولاً البنية أو الهيكل الرئيسي ثم أضف الزمر R المناسبة. أرسم خطاً متعرجاً (Zigzag) مكوناً من ذرات السلسلة الرئيسة أو «الهيكل» وهي النتروجين ألفا والكربون ألفا والكربون الكربونيلي:

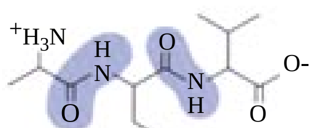


أكمل النهايات الأمينية والكربوكسيلية وأضف الهيدروجين لكل كربون ألفا ولكل ذرة نتروجين من الببتيد وأضف الأكسجين للكربون الكربونيلي:



أضف الزمر R المناسبة (الأزرق) إلى كل ذرة كربون ألفا:





الشكل 5-1 : المخطط البنيوي لثلاثي ببتيد ظللت فيه الذرات المساهمة في الروابط الببتيدية.

يُحدد تسلسل الأحماض الأمينية البنية الأولية:

تعرف البنية الأولية (Primary structure) لعديد الببتيد بمعرفة عدد ما تحويه من ثمالات الأحماض الأمينية وبنيتها وترتيبها، وتعرف الأحماض الأمينية التي تشارك زمرها الكربوكسيلية ألفا في تشكيل الروابط الببتيدية باسم «ثمالات الأمينو أسيل» "Aminoacyl residues"، وتسمى باستبدال النهايات ـ آت - *ate* وَيِن - *ine* في أسماء الأحماض الأمينية الحرة بالنهاية ـ يل *yl* ـ مثل ألانيل (Alanyl) وأسبارتيل (Aspartyl) وتيروزيل (Tyrosyl) وتسمى الببتيدات كمشتقات للثمالة الأمينو أسيلية الموجودة في نهايتها الكربوكسيلية، فعلى سبيل المثال، يعامل رباعي الببتيد المكون، على التوالي، من الليسين ـ اللوسين ـ التيروزين ـ الجلوتامين (Lys-Leu-Tyr-Gln) كمشتق للجلوتامين ويدعى ليسيل ـ لوسيل ـ تيروزيل ـ الجلوتامين؛ لاحظ أن وجود النهاية ـ ين ـ في اسم الجلوتامين تعني أن زمرته الكربوكسيلية ألفا ليست مشاركة في تشكيل أي رابط ببتيدي (حرة).

تؤثر البنية الأولية على النشاط البيولوجي:

يمكن لطفرات (Mutations) الدنا (DNA) التي تسبب تغيراً في الروامز ـ أن تؤدي إلى إقحام زمر أمينوأسيلية غير ملائمة في عديد الببتيد أو البروتين. وفي حين لا تترافق أغلب الطفرات مع تغيرات بيولوجية مهمة، فقد تؤدي حالات الاستبدال المفردة (Single substitutions) في بعض الأحيان إلى إنقاص الفعالية البيولوجية أو انعدامها تماماً فينتج عنها مضاعفات قليلة الأهمية (كعدم تحمل الكحول عند العديد من الآسيويين) أو نتائج أكثر خطورة (كفقر الدم المنجلي). وتنجم العديد من الأخطاء الأيضية الوراثية عن طفرات من هذا النوع (استبدال مفرد).

ولقد ساعدتنا الطرق الحديثة لمعرفة بنية الدنا (DNA) والبروتينات على فهم الأساس الكيميائي الحيوي للعديد من الأمراض الاستقلابية (الأيضية) الوراثية.

تستخدم الاختصارات لتسمية الأحماض الأمينية الموجودة في الببتيدات:

يمكن استخدام نوعي الاختصارات (أحادية وثلاثية الأحرف) (الجدول 4-1) لتمثيل البنية الأولية للبروتينات (الشكل 5-2). وتمثل الاختصارات ثلاثية الأحرف المتصلة بخطوط مستقيمة البنية الأولية المعروفة وغير الملتبسة، وتحذف الخطوط السابقة عند استخدام الاختصارات أحادية الحرف. أما عندما نكون غير متأكدين من تسلسل الأحماض الأمينية في جزء من عديد الببتيد، فنقوم بوضع الاختصارات بين قوسين مفصولة عن بعضها بفواصل (،) (الشكل 5-3).

Glu - Ala - Lys - Gly - Tyr - Ala

E A K G Y A

الشكل 5-2 : تمثيل لثمالات سداسي ببتيد بثلاثة أحرف وبحرف واحد.

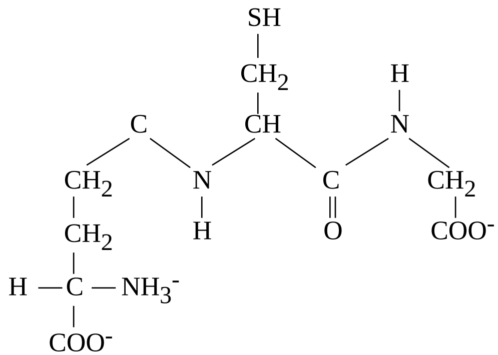
Glu - Lys - (Ala, Gly,Tyr) - His - Als

الشكل 5-3 : سباعي ببتيد يحوي منطقة ذات بنية أولية غير مؤكدة (ضمن القوسين).

تملك العديد من الببتيدات فعاليات فيزيولوجية:

تحتوي كل من الخلايا النباتية والحيوانية والجراثيم على أنواع مختلفة من عديدات الببتيد ذات الوزن الجزيئي المنخفض (3-100 ثمالة أمينوأسيلية) التي تملك فعالية فيزيولوجية مهمة. بعضها (بما فيها الهرمونات عديدة الببتيد الثديية) يحتوي فقط على روابط ببتيدية مشكلة بين الزمر الكربوكسيلية والأمينية ألفا للأحماض

الأمينية المياسرة ألفا المكونة للبروتينات. ومع ذلك، فقد توجد أيضاً أحماض أمينية إضافية أو مشتقات من الأحماض الأمينية المكونة للبروتينات. أما البعض الأخر فقد يحوي روابط ببتيدية غير مألوفة (Unusual) كما هو الحال في الجلوتاثيون الذي يرتبط فيه الجلوتامات بالسستيين برابط ببتيدي ليس من النوع ألفا (الشكل 5-4).



الشكل 5-4 : الجلوتاثيون (جاما ـ جلوتاميل ـ سيستينيل الجليسين). لاحظ الرابطة الببتيدية غير ألفا الذي تربط الجلوتامين بالسستيين.

قد تحتوي الببتيدات على أحماض أمينية غير مألوفة:

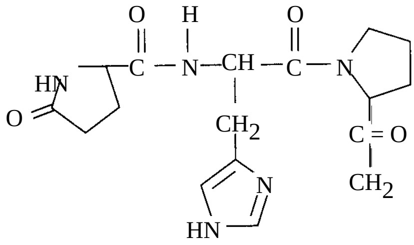
تحتوي العديد من الببتيدات المنتجة من قبل الفطريات والجراثيم والحيوانات الدنيا على أحماض أمينية غير موجودة في البروتينات عموماً. فعديدات الببتيد الحلقية، التيروسيدين (Tyrocidin) والجراميسيدين Gramicidin S) S)، وهي عبارة عن مضادات حيوية فطرية يتم تخليقها الحيوي بشكل مستقل عن جزيئات الرنا المرسال (mRNAs)، تحتوي على الفينيل ألانين الميمن (-D) والأورنيثين المُضاهي لليزين (انظر الفصل 13). كما أن الببتيدات الجرثومية، النيزين (Nisin) والسوبتيلين (Subtilin) والإيبيدرمين (Epidermin)، وهي عبارة عن مضادات حيوية مكونة من طلائع تتجمع على الريباسات، تحوي الحمض الأميني غير المألوف،

لانثولين (Lantholine). وبالرغم من وجود الأحماض الأمينية الميمنة في الببتيدات القصيرة المتحررة من بعض الحيوانات، فإنه من غير الواضح أنها موجودة عند الإنسان. وكأمثلة على ذلك نذكر الديرمورفين (Dermorphin) والدلتورفين (Deltorphin)، وهما عبارة عن أفيونيات (Opiates) سباعية الببتيد (Heptapeptides) موجودة في جلد ضفادع الأشجار في أمريكا الجنوبية وتحتويان على التيروزين الميمن والألانين الميمن. لاحظ أنّ تقنيات السلسلة (Sequencing) المذكورة أدناه لا تستطيع التمييز بين المصاوغات الميمنة والمياسرة للأحماض الأمينية.

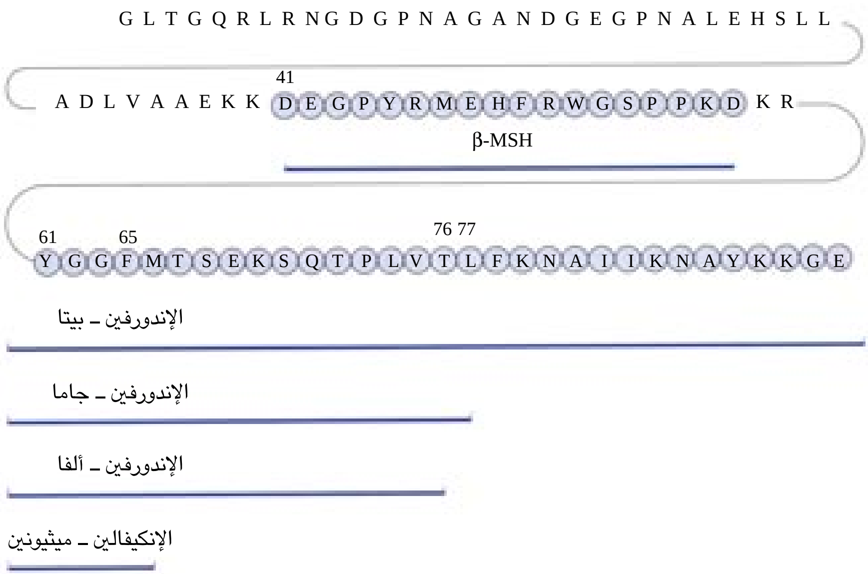
يتطلب عمل العديد من الإنزيمات وجود الجلوتاثيون، وهو عبارة عن ثلاثي ببتيد يرتبط فيه الجلوتامات الموجود في النهاية الأمينية مع السيستيين برابطة ليست من النوع ألفا (الشكل 5-4). ويشارك الجلوتاثيون مع مختزلة الجلوتاثيون (Glutathione reductase) في تشكيل الروابط ثنائية السلفيد (Disulfide bonds) في العديد من البروتينات والهرمونات عديدة الببتيد وفي أيض المركبات الأجنبية بيولوجياً (Xenobiotics) (الفصل 16).

ويعطي الهرمون المطلق لموجهة الدرقية (Thyrotropin-releasing (TRH) hormone) (الشكل 5-5) مثالاً آخر عن وجود الأحماض الأمينية غير المألوفة حيث يتحلق الجلوتامات الموجود في نهايته الأمينية ليشكل حمض البيروجلوتاميك (Pyroglutamic acid)، كما تتحول الزمرة الكربوكسيلية للبروليل الموجود في النهاية الكربوكسيلية إلى أميد.

وقد يحتوي عديد الببتيد في الثدييات على أكثر من عديد ببتيد فعال فيزيولوجياً، فالبنية الأولية لليبوتروبين ـ بيتا ـ (β- Lipotropin) (الهرمون النخامي الذي يحرض على تحرير الأحماض الدهنية من النسيج الشحمي) تحتوي على متتاليات من الأحماض الأمينية مشتركة مع العديد من الهرمونات الببتيدية الأخرى ذات الفعاليات الفيزيولوجية المتنوعة (الشكل 5-6). أي أن عديد الببتيد الكبير هو طليعة لمجموعة من عديدات الببتيد الأصغر.



الشكل 5-5 : بيروجلوتاميل – هيستيديل البرولين أميد.



الشكل 6-5 : بنية الليبوتروبين ـ بيتا الأولية. الثمالات 41-58 هي الهرمون المنبه للخلية؛ والثمالات 61-91 تحوي البنية الأولية للإندورفينات المشار إليها.

الببتيدات هي مركبات متعددة الكهارل (Polyelectrolytes):

ليس للرابطة الببتيدية (الأميدية) أية شحنة في أي درجة باهاء (pH) فيزيولوجية، وبالتالي فإن تشكيل الببتيدات من الأحماض الأمينية في درجة الباهاء (pH) 7.4 يترافق مع ضياع شحنة واحدة سالبة وأخرى موجبة مقابل كل رابط ببتيدي يتشكل. ومع ذلك، فإن الببتيدات جزيئات مشحونة في درجة الباهاء (pH) الفيزيولوجية، ويعود ذلك إلى زمرها الكربوكسيلية والأمينية المطرافية والزمر الحمضية أو القاعدية الموجودة في السلاسل الجانبية للأحماض الأمينية المكونة لها.

تحدد قيم الباهاء (pH) والـ p*K* الشحنة الإجمالية للببتيدات:

كما هو الحال بالنسبة للحمض الأميني، تعتمد الشحنة الصافية (الإجمالية) (Net charge) للببتيدات على قيم الباهاء (pH) وقيم p*K* العائدة لمجموعات التفارق الموجودة في أحماضها الأمينية. هذه المجموعات هي الزمر الأمينية ألفا والكربوكسيلية ألفا في الحمضين الأمينيَّين الموجودين في النهايتين الأمينية والكربوكسيلية للببتيد وكذلك الزمر الوظيفية القابلة للتأيّن الموجودة في السلاسل الجانبية للأحماض الأمينية الحمضية والقاعدية. ويبين (الجدول 5-1) القيم التقريبية للثابتة p*K* الخاصة بزمر تفارق الببتيدات المتمسخة (Denatured) التي تعوزها البنية المنظمة.

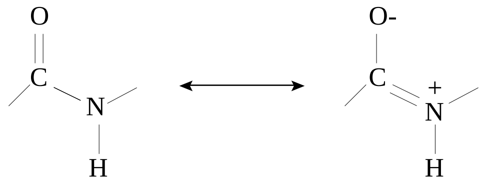
يمكن لهذه القيم أن تختلف بشكل ملحوظ في الببتيدات الأصلية لأن البيئة المحيطة بزمر التفارق تلعب دوراً هاماً في تحديد هذه القيم؛ ولعل المثال الواضح جدا على هذا الدور هو انحراف قيمة الـ p*K*الخاصة ببعض الثمالات الموجودة في المركز الفعال لبعض الإنزيمات لعدة وحدات باهاء (pH). لاحظ أيضاً الفروق في قيم الـ p*K* بين الثمالات الببتيدية والأحماض الأمينية بشكلها الحر (الجدول 4-1).

pK	الزمرة
3.6	الكربوكسيل ـ ألفا
4.5	الكربوكسيل غير الألفا للأسبارتات أو الجلوتامات
7.7	الأمين ـ ألفا (ليس البرولين)
8.5	ثيول السستيين
9.0	الأمين ـ ألفا (البرولين)
10.5	الأمين ـ أيبسلون لليزين
10.5	الهيدروكسيل الفينولي للتيروزين
12.0 <	جوانيدينو الأرجينين

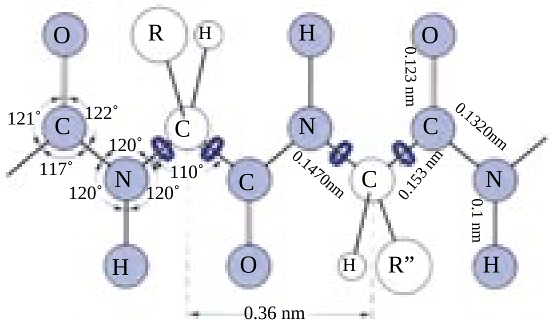
الجدول 5-1 : القيم التقريبية لثابتة الـ pK الخاصة بزمر التفارق الموجودة في الببتيدات.

تمتلك الرابطة الببتيدية خاصية الرابطة المزدوجة الجزئية:

بالرغم من كتابة الببتيدات على شكل روابط مفردة بين الذرات الكربوكسيلية والنتروجينية ألفا، فإن لهذه الرابطة خاصية الرابطة المزدوجة الجزئية (الشكل 5-7)؛ فالدوران غير مسموح حول الرابط بين ذرتي الكربون والنتروجين. ينجم عن ذلك أن كل الذرات الأربع المرسومة في (الشكل 5-7) تقع في المستوي نفسه (Coplanar) ويكون لهذه القساوة الجزئية (Semirigidity) نتائج هامة على ترتيب بنية البروتين فوق مستواها الأولي. وفي مقابل ذلك، نجد أن هناك حرية واسعة في الدوران حول الروابط الأخرى الموجودة في هيكل عديد الببتيد. ويلخّص (الشكل 5-8) هذا المفهوم، وتمت فيه إحاطة الروابط القابلة للدوران بحلقا بينما ظُللت الذرات الواقعة في المستوى ذاته.



الشكل 5-7 : يمنح استقرار الرابطة الببتيدية الرنيني صفة الرابطة المضاعفة الجزئية، ومن ثم القساوة، للرابطة C-N.



الشكل 5-8 : الأبعاد الكاملة لسلسلة ببتيدية. تقع الذرات الأربع (مظللة بالأزرق) المشاركة في الرابطة الببتيدية في المستوي نفسه؛ والذرات غير الملونة هي ذرات الكربون ألفا والهيدروجين ألفا والمجموعة R ألفا للحمض الأميني المعني. ويمكن أن يحصل الدوران الحر حول الروابط التي تصل بين الكربون ألفا والنتروجين ألفا أو الكربونيل (الأسهم المظللة). إذن، السلسلة الببتيدية هي بنية نصف صلبة تبقى فيها ثلثي ذرات الهيكل الأساسي على سطح ثابت ومرتبطة الواحدة مع الأخرى. وتكون المسافة بين ذرات الكربون ألفا هي 0.36 نم (3.6 أنجستروم)؛ وتظهر في الشكل أيضاً المسافة ما بين الذرات وزوايا الرابط، والتي لا تكون متساوية.

القوى اللاتساهمية تحد من عدد هيئات الببتيد:

بالرغم من العدد الكبير من الهيئات (Conformations) (التراتيب الحيزية Spatial arrangements) الممكن لعديد الببتيد أن يشكلها، فإن هناك عدداً قليلاً من الهيئات التي يمكن أن توجد في المحلول. وتعكس هذه الهيئات المفضلة مجموعة من الحقائق كالإعاقة الفراغية (Steric hindrance) والتآثرات الكولومية (Coulombic interactions) [الكولوم هو وحدة قياس الشحنة الكهربية] والروابط الهيدروجينية والتآثرات الكارهة للماء. ومن الأهمية بمكان أن نذكر هنا أن الفعالية الفيزيولوجية للببتيدات والبروتينات تتطلب وجود هيئات خاصة (الفصل 6) وأن هيئات الببتيدات الأصلية تتحدد من قبل تسلسل أحماضها الأمينية (البنية الأولية) وتعكس محصلة تأثير كل التآثرات اللاتساهمية بين الثمالات الموجودة في السلسة. ومن الهيئات الشائعة في البروتينات نذكر الحلزونات ألفا اليمينية المكتنزة (Compact right-handed α-helices) والبنى المتطاولة بيتا ذات الصفائح الملتفة المتوازية وغير المتوازية (β - pleated sheets) (انظر الفصل 6)، أما تطوي (Folding) السلسة الببتيدية فمن المحتمل أنه يتم في الوقت نفسه الذي يتم فيه تخليقها على الريباسات (انظر الفصل 40).

سلسلة البروتين : تحديد البنية الأولية:

تظهر مقارنة المتواليات الببتيدية الثمالات الرئيسة والعلاقات السلالية (تطور السلالات Phylogenic) :

تظهر مقارنة البنى الأولية للبروتين نفسه والمأخوذ من كائنات حية ذات قرابة بعيدة وجود عدد قليل من الثمالات التي لا تتغير بين الأنواع (Species) المختلفة. هذه الثمالات المصونة (Conserved)، والتي تقوم عادة بوظائف أساسية، تعطي المفتاح الحيوي الذي يحدد وظيفة البروتين (كمكون هيكلي خلوي أو كناقل للإلكترونات أو كحفاز (Catalyst).

أما مدى الاختلاف بين الأنواع في الثمالات غير المصونة في بروتين ما فيعطي

المعلومـات حـول مـدى الاخـتـلاف الـحـاصـل بين الأنواع خـلال تطورها، ويتـعلق مـدى تماثل الثـمـالات بمدى تقـارب العـلاقـات التطورية فـيزيد التمـاثل مـع زيادة التـقـارب ويزيد الاخـتـلاف مـع تبـاعـد العـلاقـات الـتطورية. وأول المعلومـات كـانت حـول عـديد البـبـتـيـد الحـامل للإلكتـرون والـواسع الانتـشـار والمكون من 104-111 ثمـالة، السيتوكروم C؛ لكن هذه المعلومات تنطبق الآن حقيقة على عدد كبير ومتزايد من البروتينات.

ويمكن الاستدلال على مقارنة المتواليات الببتيدية من خلال الاطلاع على تسلسل الدنا (DNA) في قواعد البيانات المنتشرة في الإنترنت (يمكنك، على سبيل المثال، مراجعة موقع معلومات المركز الوطني للتقنيات البيولوجية على العنوان التالي: http://www3.ncbi.nlm.nih.gov) كما نجم عن التطورات الحديثة في سلسلة المجين (Genome) وخاصة في بدائيات النوى (Prokaryotes) كمية هائلة من قواعد البيانات الخاصة بتسلسل الدنا (DNA) يمكنك، على سبيل المثال، مراجعة الموقع التالي على الإنترنت (http://www.tigr.org/tdb/mdb/mdb.html). لقد حسنت برامج الحاسوب من استـخدام قـواعـد البـيـانات هذه، حيث تقـوم هذه البـرامج بمقـارنة المتتـاليـات المكتشفة حديثاً مع المتتاليات المنشورة في قواعد البيانات في أنحاء العالم وتساهم ـ بالتالي ـ في إمكانية اعتماد تسلسل البروتينات المرمزة التي نتساءل عنها.

تنقي الببتيدات قبل تحليل بنيتها:

تبقى معلومات سلسلة الببتيد غير قابلة للتأويل ما لم تتجاوز نسبة التجانس (Homogeneity)، المقدرة بطريقة SDS-PAGE، القيمة 95 ٪، ولذلك لا بد من تنقية الببتيد أولاً بالطرق المناسبة (الفصل 8). ولتقييم فعالية خطة التنقية، يجب تحديد نقاوة العينة بعد كل خطوة؛ فإذا كان للببتيد المدروس خاصة مميزة ما (كأن يكون له نشاط تحفيزي أو طيف امتصاص خاص أو قابلية للتآثر مع أحد الأضداد)، فإن ذلك سيسمح بتمييزه. وبالمناسبة فإن لهلامات عديد الأكريلاميد النقية أو المرتبطة مع SDS قدرة عالية على الفصل كما أن تقنيتها سريعة وسهلة، ويمكن استخدامها لتحليل عدة عينات، كما تعطي مقياسا بصرياً لفعالية مخطط التنقية.

عادة ما نحدد محتوى الببتيد من الأحماض الأمينية أولاً:

يجري عادة تحديد الأحماض الأمينية التي تدخل في تركيب الببتيد قبل البدء بسلسلته مما يمكننا من تجنب بعض الأخطاء المحتملة والتأكد لاحقاً من صحة معلومات السلسلة؛ ولذلك تحطم الروابط الببتيدية أولاً بطريقة الحلمهة، ثم تفصل الأحماض الأمينية المتحررة ويجري التعرف عليها إما بطريقة HPLC أو الاستشراب بتبادل الأيونات.

وفي واقع الأمر، لا توجد طريقة تسمح بحلمهة الببتيدات تماماً دون حدوث ضياع لبعض ثمالاتها. وتقوم الطريقة المتبعة حالياً على حلمهة عدة نسخ من الببتيد في محلول NHCl في الدرجة 110°م ضمن أنابيب زجاجية مغلقة ومفرغة من الهواء لمدة 24 و 48 و 72 و 96 ساعة. سيؤدي ذلك إلى النتائج التالية:

- تخريب كل ثمالات التريبتوفان والسستيين.
- ضياع بعض ثمالات الميثيونين والتيروزين عند وجود الأيونات المعدنية.
- يكون استخلاص السيرين والثريونين غير كامل.
- يخسر كل من الجلوتامين والأسباراجين زمرته الأمينية ليتحولا إلى جلوتامات وأسبارتات، على التوالي.
- أما الروابط الببتيدية Val-Val وIle-Ile وVal-Ile وIle-Val فهي تقاوم الحلمهة بشدة.

ويمكن التغلب على هذه المشاكل كما يلي:

- أكسدة السستيين إلى حمض السستييك (مشتق ثابت تجاه الحمض) قبل الحلمهة.
- معايرة التريبتوفان بعد الحلمهة الأساسية (Basic hydrolysis) و (هي العملية التي تخرب السيرين والثريونين والأرجينين والسستيين).
- أخذ المعلومات عن السيرين والثريونين قبل الحلمهة مباشرة.

ـ تقدير كل من الڤالين واللوسين من البيانات التي يتم تجميعها على مدى 96 ساعة.

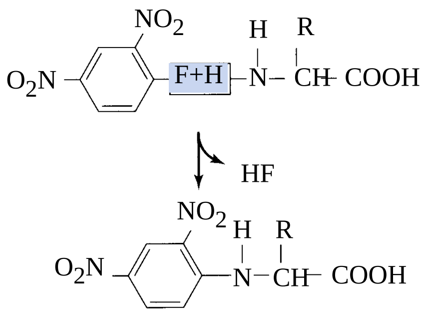
ـ إعطاء المعلومات عن الأحماض الكربوكسيلية وأميداتها على شكل Asx أو Glx.

ـ وأخيراً، وبما أن الأجزاء النسبية لكل حمض أميني يجب أن تكون عدداً صحيحاً، لذلك تقرب الأجزاء العشرية لنسب الأحماض الأمينية إلى أقرب رقم صحيح.

كان العالم سانجر (Sanger) أول من أجرى سلسلة لعديد ببتيد:

مضت أكثر من أربعة عقود من الزمن منذ أن قام سانجر بتحديد البنية الأولية الكاملة لهرمون الإنسولين عديد الببتيد. وقد قام سانجر أولاً بفصل السلسلتين الببتيديتين A و B للإنسولين ثم تحويلهما بواسطة عمليات شطر إنزيمية نوعية إلى ببتيدات أصغر تحوي تسلسلات متداخلة. بعد ذلك، وباستخدام مركب 1– فلورو – 2، 4 – ثنائي نترو البنزين -1 (1- fluoro-2,4-dinitrobenzene) (الشكل 5-9)، قام سانجر بنزع ثمالات الأحماض الأمينية من النهاية الأمينية لهذه الببتيدات واحدة تلو الأخرى وتمييزها. وبمقارنة تسلسلات الببتيدات المتداخلة استطاع التَّوصل إلى البنية الأولية لكلا السلسلتين A و B.

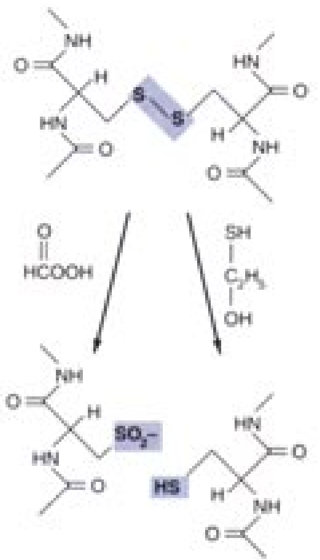
بعد ذلك، ظهرت تقنيتان أحدثتا ثورة في آلية تحديد البنى الأولية لعديدات الببتيد (البروتينات). تعتمد الأولى (ابتكرها إدمان Edman في العام 1967) على النزع الآلي المتتالي لثمالات الأحماض الأمينية الانتهائية وتمييزها على هيئة مشتقاتها مع الفينيل ثيوهيدانتوين (Phenylthiohydantoin)؛ أما التقنية الثانية فقدمها كل من سانجر من جهة ومكسام (Maxam) وجلبرت (Gilbert) من جهة أخرى، وتعتمد على طرائق السلسلة السريعة للدنا (DNA). والطريقة المثلى المتبعة حالياً تعتمد على استخدام التقنيتين معاً في الوقت نفسه.



الشكل 5-9 : تفاعل الحمض الأميني مع 1 – فلورو – 2 ، 4 – ثنائي نتروفلورو البنزين (كاشف سانجر). وسُمي باسم مكتشفه الحائز على جائزة نوبل (فريدريك سانجر) والذي استخدمه لتحديد البنية الأولية للإنسولين.

تحدَّد البنية الأولية بطريقة (إدمان) الآلية:

بما أن العديد من البروتينات تتألف من أكثر من سلسلة ببتيدية مرتبطة بقوى غير تساهمية أو جسور ثنائية السلفيد، فإن فصل هذه السلاسل عن بعضها يجب أن يكون الخطوة الأولى باتجاه السلسلة. وتقوم العوامل الماسخة (كاليوريا وهيدروكلوريد الجوانيدين) بإزالة الروابط الهيدروجينية وفصل عديدات الببتيد المرتبطة بشكل غير تساهمي؛ أما العوامل المؤكسدة (Oxidizing) والمرجعة (المختزلة) (Reducing) فتقوم بكسر الروابط ثنائية السلفيد (الشكل 5-10). بعد ذلك، يتم فصل السلاسل الببتيدية بالاستشراب والرحلان الكهربي.



الشكل 5 -10 : التشطُّر الأكسدي لسلاسل عديدة الببتيد مرتبطة بروابط ثنائية السلفيد (الروابط المظلَّلة) بحمض البيرفورميك (في الأيسر)، أو التشطُّر الإرجاعي بببيتا مركبتوإيثانول (في الأيمن) وهو يشكل نوعين من الببتيدات يتحدان مع ثمالات حمض السِستييك أو السيستينيل على الترتيب.

تشطر عديدات الببتيد الكبيرة قبل سلسلتها:

تكون أجهزة إجراء السلسلة الآلية (المسلسلات (Sequenators)) أكثر كفاءة وعملية عندما يكون طول السلسلة الببتيدية بين 20 و 60 ثمالة، ولذلك فإن من المحبذ القيام بعمليات شطر نوعية في مواضع نادرة نسبياً، وتقوم الكواشف (Reagents) التالية بهذه الوظيفة:

أ ـ بروميد السيانوجين (Cyanogen Bromide "CNBr"): يجري أولاً تحوير ثمالات السستيين بوساطة حمض يودو أسيتيك، ثم يقوم CNBr بالشّطر في الجانب الكربوكسيلي (COOH) من الميثيونين. وبما أن الميثيونين نادر نسبياً في عديدات الببتيد، فإن استخدام CNBr يولد شدفاً (Fragments) ببتيدية بأطوال مناسبة.

ب ـ التريبسين (Trypsin): يشطر التريبسين الببتيد عند الجانب الكربوكسيلي من

الليسين والأرجينين. فإذا أجري لثمالات الليزيل اشتقاق بوساطة أنهيدريد السيتراكونيك (Citraconic anhydride) (وهو تفاعل عكسى) لتغيير شحنتها من الإيجابية إلى السلبية، فإن التريبسين يشطر فقط ما بعد الأرجينين. أما اشتقاق ثمالات الأرجينين فيكون أقل فائدة بسبب الغزارة النسبية في ثمالات الليسين. ومع ذلك، يفيد استعماله في شطر الشدف الناجمة عن بروميد السيانوجين.

جـ ــ **O – يودوزوبنزين (O-Iodosobenzene)**: يشطر الروابط Trp-X النادرة نسبياً، ولا يحتاج عمله إلى أية حماية مسبقة لباقي الثمالات.

د ــ **الهيدروكسيل أمين (Hydroxylamine)**: يشطر الروابط Asn-Gly النادرة نسبياً، ولكنه لا يعطي مردوداً من الناحية الكمية.

هـ ــ **البروتياز أو البروتيناز V8 (Protease V8)**: وهو إنزيم مشتق من العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) ويقوم بشطر الببتيد عند الرابط Glu-X ويفضل المواقع التي يكون فيها X حمضاً أمينياً كارهاً للماء. ويقاوم الرابط Glu-Lys هذا الشطر مما يجعله مفيداً في شطر الشدف الناجمة عن بروميد السَّيانوجين.

و ــ **الحلمهة الحمضية الخفيفة (Mild acid hydrolysis)**: تشطر الرابطة النادرة Asp-Pro.

تتطلب السلسلة عدة عمليات هضم:

يسمح إجراء هضم عديد الببتيد الأصلي لمرتين أو ثلاث (عادة يتم ذلك عند الميثيونين والتريبتوفان والأرجينين وبين الأسباراجين والجليسين) ثم الهضم الجزئي للشُّدف الناتجة، يسمح بتحديد البنية الأولية الكاملة لعديد الببتيد. وإذا حصلت صعوبات غير معتادة في تنقية الشُّدف، فإن من الممكن تلافيها ببضع ميكرومولات من عديد الببتيد.

يجب فصل مزائج الببتيدات قبل سلسلتها :

تتم تنقية الشدف بشكل أساسي بطريقة الترشيح الهلامي (Gel filtration) في حمض الأسيتيك أو حمض الفورميك، أو في الطور المعكوس لطريقة الاستشراب السائل رفيع الإنجاز (HPLC) أو بالاستشراب بتبادل الأيونات على الفسفوسلولوز أو السلفوفينيل سيفادكس (Sulfophenyl Sephadex) في محاليل من حمض الفسفوريك.

يمكن فصل الببتيدات بالاستشراب أو الرحلان الكهربي:

1 – الاستشراب بتبادل الأيونات والرحلان الكهربي عالي الڤولطاج (HVE): تقوم هاتان التقنيتان (الفصل 4) على فصل المركبات اعتماداً على شحنتها، ويمكن تطبيقهما على عديدات الببتيد ذات الوزن الجزيئي المنخفض وعلى الأحماض الأمينية أيضاً. وتكون قيمة p*K* لزمرة الكربوكسيل ـ ألفا للحمض الأميني في النهاية الكربوكسيلية لعديد الببتيد أكبر من تلك الخاصة بزمرة الكربوكسيل ـ ألفا في الحمض الأميني نفسه بشكله الحر (أي أن كربوكسيل الببتيد هي حمض أضعف). وعلى العكس من ذلك، فإن الزمرة الأمينية ـ ألفا للحمض الأميني في النهاية الأمينية تكون حمضاً أقوى (ولها p*K* أخفض) من الزمرة الأمينية للحمض الأميني الحر الذي اشتقت منه.

2 – الترشيح الهلامي: يستخدم في طريقة السلسلة الآلية عدد قليل من الببتيدات الكبيرة (30-100 ثمالة). ومع ذلك، قد يكون العديد من عديدات الببتيد المتمسخة ذات الوزن الجزيئي العالي غير ذوابة بسبب ما يحدث خلال التمسخ من انكشاف للثمالات الكارهة للماء التي كانت مختبئة قبل ذلك. وفي حين يمكن التغلب على عدم الذبان باستخدام اليوريا أو الكحولات أو الأحماض العضوية أو الأسس، فإن ذلك يحد من إمكانية الاستخدام اللاحق لتقنيات تبادل الأيونات في تنقية الببتيد.

يجرى الترشيح الهلامي لعديدات الببتيد الكارهة للماء في حمض الأسيتيك أو حمض الفورميك بتراكيز تتراوح بين 1 و 4 مول/ليتر. وتقوم هذه التّقنية بفصل

الجزيئات ذات الأبعاد المختلفة اعتماداً على استبعادها أو مرورها عبر ثقوب منخل جزيئي كالسيفادكس.

3 – الطور العكسي للاستشراب السائل رفيع الإنجاز (HPLC): الطريقة الفعالة في تنقية الببتيدات غير القطبية عالية الوزن الجزيئي هي الاستشراب السائلي رفيع الإنجاز على دعام (Support) غير قطبي، مع الشطف (Elution) بمذيبات قطبية (الطور المعكوس لتقنية HPLC) وتستعمل هذه التقنية مع تقنية الترشيح الهلامي لتنقية المزيج المعقّد من الببتيدات الناجمة عن الهضم الجزئي للبروتينات.

4 – الرحيل الكهربي عالي الڤولطاج (HVE) على المناخل الجزيئية (Molecular sieves) : قد يستخدم النخل الجزيئي بالتزامن مع الفصل اعتماداً على الشحنة لتسهيل عملية تنقية الببتيدات. وفي حين يمكن استعمال النشاء والأجاروز كدُعام، فإن الأكثر شيوعاً هو استخدام المكثور المتصالب للأكريلاميد - $CH_2 = CH$) $CONH_2$). وفي حال استعمال الرحلان الكهربي على هلامة عديد الأكريلاميد (PolyAcrylamide Gel Electrophoresis “PAGE”)، تطبق محاليل البروتينات في الأنابيب المدروءة (Buffered) أو على ألواح (Slabs) من عديد الأكريلاميد المصالب (2-10 ٪) بإقحام ثنائي أكريلاميد الميثيلين (Methylene bisacrylamide “bis”) CH_2 $(CH_2 = CH - CONH_2)_2$ أو كواشف متصالبة أخرى مشابهة. بعد ذلك يتم تطبيق التيار المباشر. أما الإظهار فيتم بالتلوين بزرقة كوماسي (Coomassie blue) أو بأيونات الفضة (Ag^+). ولعل النمط الأكثر شيوعاً في هذا المجال هو استخدام تقنية PAGE في ظل ظروف ماسخة حيث يجري تسخين البروتين حتى الغليان وترحيله بوجود عامل ماسخ هو سلفات دوديسيل الصوديوم (SDS) وصيغته هي: $CH_3 - (CH_2)_{11} - SO_3^{2-}$ يقوم هذا الأخير (وهو المشحون سلبياً) بتشكيل غلالة (Coat) حول الببتيدات بما يعادل جزيئاً واحداً من SDS لكل رابطين ببتيديين تقريباً؛ وهذا «يقنعُ» (Swamps) الشحنة الأصلية للبروتين ويصبح المركب النّاتج سلبياً تماماً، وكنتيجة لذلك، تعتمد طرائق الفصل اللاحقة بشكل أساسي على مقاس الجزيئات فقط. وتستخدم طريقة SDS-PAGE بشكل واسع لتحديد الأوزان الجزيئية للبروتينات بمقارنة حركيتها مع حركية ببتيدات أخرى عيارية ذات أوزان جزيئية معروفة.

يستخدم تفاعل إدمان (Edman reaction) في سلسلة الببتيد:

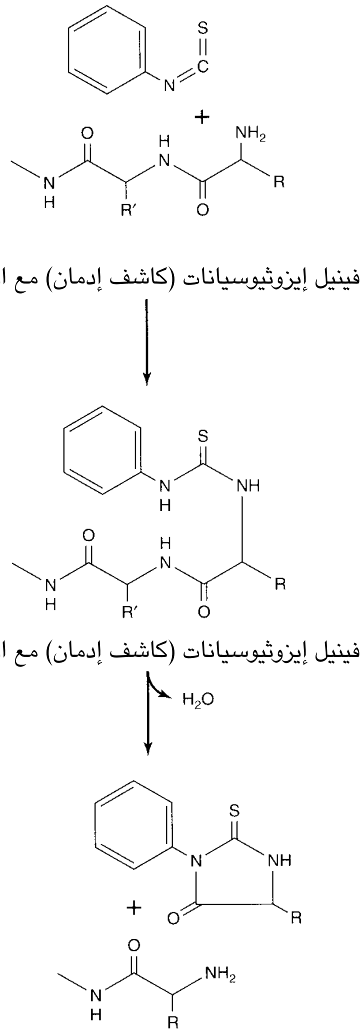
يستخدم كاشف إدمان (فينيل إيزو ثيوسيانات: Phenyl isothiocyanate) في إجراء السلسلة. وعلى غير ما هو الحال عليه في تقنية سانجر، فإن طريقة إدمان تبقي الببتيد المحور سليماً بعد نزع الحمض الأميني من النهاية الأمينية مما أحدث ثورة في مجال سلسلة البروتينات. ويقود تفاعل إدمان (الشكل 5-11) إلى تحرير الحمض الأميني من النهاية الأمينية للببتيد كمشتق للفينيل ثيوهيدانتوين، والذي يمكن تمييزه بعد ذلك بتقنية HPLC. ويجري للحمض الأميني التالي في الترتيب اشتقاق مماثل ثم يجري نزعه وتمييزه، وتكرر العملية بحيث يمكن تحديد تسلسل 30-40 ثمالة حمض أميني (و 60-80 أحياناً) في عملية متواصلة واحدة. وتجري تفاعلات إدمان إما على فلم رقيق على جدار الحجرة الدوارة للتفاعل أو على مطرق (Matrix) صلب ربطت إليه النهاية الكربوكسيلية للببتيد برابط تساهمي. وأما طريقة السلسلة بالطور الغازي فتعتمد على كواشف غازية وتسهل نزع النواتج الغازية. وتطبق تقنية السلسلة بالطور السائل على الكميات الضئيلة جداً من الببتيدات (حتى 1 مكروجرام في بعض الحالات).

لا بد من سلسلة العديد من الببتيدات المتداخلة:

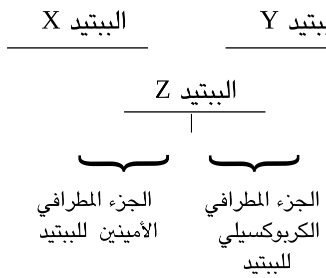
لا تكفي سلسلة كل الشدف الناجمة عن شطر البروتين بالكاشف CNBr للحصول على كامل المعلومات المطلوبة لتحديد بنيته الأولية بشكل تام، ويعود ذلك لعدم وجود أية معلومات عن ترتيب هذه الببتيدات ضمن البروتين المسلسل. وللوصول إلى هذه البنية لا بد من تحضير شدف ببتيدية أخرى تتداخل نهاياتها الأمينية والكربوكسيلية مع شدف CNBr وذلك باستعمال بعض الطرائق (مثل الهضم بالكيموتربسين) التي تشطر البروتين في أماكن غير ثمالات الميثيونين، ثم سلسلتها. بعد ذلك، وبمقارنة السلاسل الببتيدية المتداخلة، يمكن استنتاج البنية الأولية دون لبس، وهي العملية الشبيهة بحل لغز الصور المقطعة (الشكل 5-12).

ولتحديد مواقع الروابط ثنائية السلفيد، يجري فصل الببتيدات من البروتين غير المُعالَج والبروتين المرجع (المختزل) أو المؤكسد بواسطة الاستشراب ثنائي البعد أو

الرحــلان الكهـربي والاسـتــشــراب (البــصـم: Fingerprinting). ويبـدي الإظهـار بالنينهيدرين ببتيدات أقل في هضـامة البروتين غير المعالج وببتيدات إضـافيـة في هضـامة البروتـين المعالج. ومع معرفة البنية الأولية لهذه الببتيدات، يمكن الاسـتدلال على مواضـع الروابط ثنائية السلفيد.



الشكل 5-11: تفاعل «إدمان». يشتق تفاعل فينيل إيزوثيوسيان الثمالة الأمينية النهائية للببتيد على شكل حمض فينيل ثيوهيدانتويك، ثم تؤدي المعاملة مع حمض في مذيب غير هيدروكسيلي إلى تحرير الفينيل هيدنتوين، والذي يمكن تمييزه بعد ذلك بحركيته الاستشرابية، وبظهور ببتيد أقصر بثمالة واحدة؛ وتكرر العملية فيما بعد.



الشكل 12-5 : يستعمل الببتيد المتراكب Z لاستنتاج أن الببتيدين X و Y موجودان في البروتين الأصلي بالترتيب X Y وليس العكس.

تعد سلسلة الببتيدات والدنا (DNA) تقنيتين متممتين لبعضهما:

في حين أحدثت سهولة تقنية سلسلة الدنا (DNA) وسرعتها (الفصل 42) ثورة في طريقة تحديد بنية الببتيد، فإن هاتين العمليتين متممتان لبعضهما أكثر منهما متنافستين، وعلى العموم فإن لكل منهما ميزاتها ومساوئها.

فبينما يمكن استنتاج البنية الأولية للبروتينات بإجراء سلسلة الجينات التي ترمزها، يبقى إجراء سلسلة البروتين بحد ذاته ضرورياً للتحليل البنيوي للبروتينات؛ ولا تستطيع سلسلة الدنا (DNA) أن تكشف عن موضع الروابط ثنائية السلفيد، أو عن وجود العديد من ضروب التحوير الأخرى التي تجري بعد الترجمة (Posttranslation modifications)، فالروامز الثلاثية وجزيئات الرنا النقّال (tRNA) تتوافق فقط مع العشرين حمضاً أمينياً الأكثر شيوعاً في البروتينات، ولذلك لا يمكن أن تكشف سلسلة الدنا (DNA) وجود البروليل أو هيدروكسي الليسيل أو وجود مشتق ميثيلي أو إيزوبرينيلي أو فسفوريلي أو إستري أو أي ثمالات أخرى ناجمة عن التحوير ما بعد الترجمة والتي تلعب الدور الأهم في الوظائف الأساسية لبروتينات معينة. وهكذا تبقى طريقة إدمان ضرورية لتحديد بنية الببتيدات والبروتينات.

ومن جهة أخرى وبالرغم من أنه ليس لسلسلة الببتيدات أي من هذه المساوئ السابقة، فإن العديد من الببتيدات يحصل لها تعديل حال للبروتين بعد الترجمة. وهكذا فإن سلسلة الدنا (DNA) تقدم مساعدة كبيرة في كشف سلائف الببتيدات (Prepeptides) وطلائع سلائف الببتيدات (Proprepeptides) غير المستقرة والتي تلعب دوراً في التحفيز (الفصل 10)، أو في استهداف (Targeting) الببتيدات للعضيات الخلوية النوعية حيث مستقرها.

يمكن استخدام مقياس الطيف الكتلوي في سلسلة الببتيدات:

إن استخدام القصف الذري السريع (Fast atom bombardment "FAB") المقترن مع قياس الطيف الكتلوي (Mass spectrometry "MS") في جهازين لقياس الطيف الكتلوي (Mass spectrometer) مرتبطين معاً يقدم لنا طريقة بديلة لسلسة الببتيدات التي لا يتجاوز طولها 25 ثمالة؛ حيث أن القصف السريع بذرات الأرجون أو الزينون للببتيد المنحل في الجليسرول يشكل أيوناً ببتيديا مشحوناً بشحنة إيجابية. ويعمل مقياس الطيف الكتلوي الأول على عزل أيون الببتيد عن الأيونات المرافقة، ثم ينقلها إلى خلية يتم فيها تشكيل مادة غروانية من الببتيد وذرات الهليوم. وتبعا للطاقة الممتصة، يتجزأ أيون الببتيد من نهايتيه لتتشكل عدة أيونات ذات قياسات أصغر. ويجري تحديد الكتل الجزيئية لهذه الشدف الأيونية بمقياس الطيف الكتلوي الثاني.

وتسمح مقارنة الأيونات متزايدة الكتلة بالتدريج بالتعرف على جميع شدف الأحماض الأمينية وبتحديد تسلسل الببتيد بأكمله. وتعد تقنية FAB-MS المسيرة بالحاسوب نظاماً سريعاً جداً، ولا يحتاج لببتيدات عالية النقاوة، وهو يكشف الثمالات المحورة بعد الترجمة. وبعكس طريقة إدمان، فإنه يستطيع أن يسلسل الببتيدات ذات النهايات الأمينية المحصورة (Blocked) المؤسيلة (Acylated) (مثلاً). وبالمقارنة مع مسلسلات «إدمان» المتطورة، فإن أنظمة FAB-MS أكثر كلفة وأقل حساسية، وتبقى سرعتها الكبيرة هي مزيتها الأساسية.

الأسلوب المتبع حالياً لسلسلة البروتين:

يتطلب تنسيل (Cloning) الجين وجود قلائل نوكليوتيدات (Oligonucleotides) اصطناعية مؤلفة من 19 موحوداً (Monomers) أو أكثر وترمز لتسلسلات نوعية من الأحماض الأمينية في البروتين المقصود (الفصل 24). ويتطلب تصميمُ قلائل النّوكليوتيدات هذه وجود معلومات عن سلاسل الأحماض الأمينية الجزئية التي يمكن الحصول عليها من كميات صغيرة نوعاً ما من البروتين. وللحصول على هذه المعلومات، يمكننا استخدام مسلسلات البروتين (Protein sequenators) ومقياس الطيف الكتلوي التي تستطيع سلسلة حتى بيكومول واحد (10^{-12} مول) من البروتين؛ فبالنسبة إلى ببتيد وزنه الجزيئي 5000، يساوي 1 بيكومول منه 50 نانوجرام فقط (أي 50×10^{-9} جرام). وتتطلب هذه الكميات الصغيرة عناية فائقة في النقل [الإيداء (Handling)] لأنها تلتصق بمعظم السطوح حتى التيفلون، ونستخدم في التنقية أعمدة الاستشراب التي تحتوي على 1 مل أو أقل من مادة الحشو؛ ونتجنب الديال لتبادل الدوارئ لأن أغشية الديال تربط البروتين. كما تستخدم خطة التنقية شحنة ومادة كارهة للماء ومنخلاً للجزيئات مما يسمح بثلاث عمليات فصل متعاقبة وتتجنب التركيز أو الديال. وتطبق العينة على عمود مبادل للأيونات. وبعد الشطف، يضاف الملح إلى الأجزاء الفاعلة للسماح بالتصاق البروتين مع داعم التآثر الكاره للماء في العمود الثاني. وبعد ذلك، تخضع الأجزاء الفاعلة من هذا العمود إلى الاستشراب الاستبعادي الحجمي (حسب الحجم) (Size-exclusion chromatography). وعند توافر كميات بالنّانومول من البروتين المتجانس، تستخدم الإجراءات المذكورة لاحقاً لتعيين البنية الأولية، بإشراك تكنولوجيا سلسلة الدنا (DNA) والبروتين. ويرشد تركيب الأحماض الأمينية في البروتين نحو اختيار الطريقة التي تشطره إلى ببتيدات تحتوي على 25-50 ثمالة حمض أميني؛ فإذا كان تركيب الأحماض الأمينية غير معروف، يشطر 1 نانومول من البروتين عند ثمالات الليسيل أو الجلوتاميل (الجدول 5-2)؛ ثم تُفصل الببتيدات الناتجة بطريقة (HPLC) بالطور المعكوس. وتكشف الببتيدات الناشئة اعتماداً على قدرة الرابط الببتيدي على امتصاص الضوء فوق البنفسجي بطول 220-230 نم. وبعد ذلك تجري سلسلة المادة في كافة الذرى المتناظرة بطريقة «إدمان»، وتؤمن الذرى التي تحتوي على ببتيدات

منفردة معلومات مناسبة عن نموذج مسابير (Probes) قليلة النوكليوتيدات لاختيار نسائل الدنا المتمم [Complementary DNA (cDNA)] من مكتبة الدنا المتمم (cDNA)] ؛ ثم تجري سلسلة الدنا المتمم (cDNA) ـ (انظر الفصل 42).

تخضع بروتينات حقيقيات النوى عادة لعمليات الحلمهة أو للتحوير بعد الترجمة (كإضافة الجليكوزيل أو الميثيل أو الفسفتة) والتي لا يمكن لتقنية سلسلة الدنا (DNA) أن تظهرها. ولكشف هذه التغيرات، يجري شطر نحو 1 نم من البروتين إلى شدف ببتيدية بطول 5-50 ثمالة. ويكشف الشطر بين ثمالات السيستيين الببتيدات المرتبطة بروابط ثنائية السلفيد. وبعد فصل الشدف الناتجة بواسطة HPLC ، تحلل الأجزاء الذروية بمقياس الطيف الكتلوي بقذف الذرات السريع (FAB-MS) وتؤدي مقارنة الأوزان الجزيئية الذَّرية الكتلية الملاحظة للببتيد مع تلك التي يتنبأ بها من السلسلة إلى إعطاء مفاتيح نحو معرفة أنواع التحوير بعد الترجمة المحتملة.

الإنزيم	الرابطة المشطورة	متوسطة طول الببتيدات
بروتياز المكورات العنقودية المذهبة V8	Glu-X	25-20
البروتيناز الداخلية Arg-C	Arg-X	50-30
البروتيناز الداخلية Lys-C	Lys-X	20-15
البروتيناز الداخلية Asp-N	X-Asp	20-15
التريبسين	Arg-X , Lys-X	15-10

الجدول 5-2 : نوعية بعض طرائق الشطر الإنزيمية المختارة.

يمكن إنشاء الببتيدات بالطرائق الآلية:

تستخدم الببتيدات المخلقة كيميائياً كأدوية أو مضافات غذائية؛ كما تفيدنا القدرة على إنشاء مجموعة من الببتيدات التي لا تختلف بناها الأولية إلا اختلافاً بسيطاً في دراسة علاقة بنية الببتيد بفعّاليته الحيوية.

لقد تطورت الكيمياء الأساسية لتخليق الببتيدات في أواخر القرن الثامن عشر على يد الكيميائي الألماني إميل فيشر (Emil Fisher)، وقدمت لتفعيل زمر الكربوكسيل وإضافة ونزع الزمر الحاصرة التي تمنع التفاعلات الجانبية غير المرغوب فيها. وبعد العديد من السنوات، تطورت طرائق إنشاء الببتيد على يد بروس ميريفيلد (Merrifield) (نال جائزة نوبل عام 1984) الذي أبدع طريقة إنشاء الببتيدات في الطور الصلب. ولقد أحدثت طريقة إنشاء ميريفيلد الآلية، والتي تنتج ببتيدات طويلة نسبياً في وقت قصير، نهضة كبيرة في كيمياء الببتيدات.

إنشاء الببتيد في الطور الصلب:

يشرح (الشكل 5-13) طريقة ميريفيلد لإنشاء ثنائي الببتيد A-B (Dipeptide) في الطور الصلب (A هو ثمالة الحمض الأميني في النهاية الأمينية و B هو الثمالة في النهاية الكربوكسيلية)، ويلخص الشكل ذاته التفاعلات المطلوبة لإنشاء الببتيد بأي طول مرغوب. وتجري الخطوات على الشكل التالي:

1 – يجري إحصار النهايات الأمينية للحمض الأميني A (الرمز المفتوح) والحمض الأميني B (الرمز المظلّل) بوساطة زمرة *t* - بيوتيل أكسي كربونيل (■) :[*t*-butyloxycarbonyl (*t*- BOC)]

$$(H_3C)_3\text{ - C- O- }\overset{\overset{\displaystyle O}{||}}{C}\text{-}$$

فيتشكل *t*-BOC - A و *t*-BOC - B .

2 – تفعيل زمرة الكربوكسيل للمركب *t*-BOC - B بوساطة ثنائي سيكلوهكزيل الكربوديميد (DCC) (◄):

$$C_6H_6 - N = C = N - C_6H_6$$

3 – تفاعل زمرة الكربوكسيل للحمض الأميني A (والتي ستصبح الثمالة الكربوكسيلية الانتهائية للببتيد) مع راتنج بوليستريني مفعل وغير ذواب (■).

4 – تنزع الزمرة الحاصرة من *t*-BOC - A بدرجة حرارة الغرفة بواسطة حمض ثلاثي فلوروأسيتيك [Trifluoroacetic acid (TFA)].

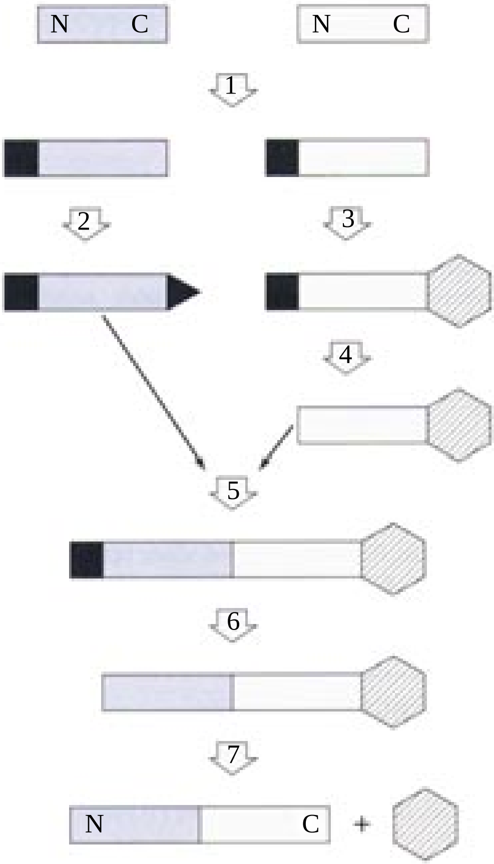
ملاحظة: يمكن من الناحية العملية حذف الخطوتين 3 و 4 بسبب التوفر التجاري للراتنجات المرتبطة مع أي مركب من الشكل *t*-BOC - X (حيث X هي أي حمض أميني مطلوب) عبر رابط إستري إلى فينيل أسيتاميدوميثيل (جزيئات تشكل صلة وصل مع الراتنج البوليستريني).

5 – تكثف زمرة الكربوكسيل المفعلة للمركب *t*-BOC - B مع الزمرة الأمينية الحرة من A المثبت.

6 – تنزع الزمرة الحاصرة *t*-BOC بوساطة TFA (انظر الخطوة 4).

7 – يحرر ثنائي الببتيد من جزيئة الراتنج بمعاملته في الدرجة -2°م مع حمض الهيدروفلوريد (HF) في ثنائي كلورو الميثان.

ومن المنجزات الأولية لطريقة ميريفيلد نذكر تخليق سلسلتي الإنسولين وإنزيم الريبونوكلياز البنكرياسي. وقد أدت التحسينات التي أجريت فيما بعد إلى تقصير زمن التخليق وزيادة الناتج بشكل ملحوظ، وأعطت أفاقاً جديدة في مجال إنتاج اللقاحات والهرمونات عديدة الببتيد وآمالاً أيضاً في معالجة بعض أخطاء الاستقلاب الولادية.



الشكل 5-13 : تمثيل لعملية تخليق ثنائي ببتيد بطريقة التخليق في الطور الصلب التي وضعها ميريفيلد؛ انظر النص المرافق لتفسير الرموز (N= المطراف الأميني؛ C= المطراف الكربوكسيلي).

الخلاصة:

تسمى الببتيدات ـ المتشكلة من ضياع جزيئات من الماء من زمر الأمينو والكربوكسيل للأحماض الأمينية ـ حسب عدد ثمالات الأحماض الأمينية الموجودة فيها؛ وتحدد البنية الأولية (ترتيب ثمالات الأحماض الأمينية انطلاقاً من النهاية الأمينية) الفعالية الحيوية وهيئة البروتين. وقد تحوي الببتيدات الصغيرة روابط ببتيدية ليست من النمط ألفا وأحماضاً أمينية غير معتادة؛ وكغيرها من عديدات الكهارل، تفصل الببتيدات بواسطة الاستشراب بتبادل الأيونات والرحلان الكهربي.

يؤدي وجود خاصية الرابط المزدوج الجزئي للرابطة بين كربون الكربوكسيل ونتروجين الأمين في الببتيد إلى أن تبقى الذرات الأربع للرابط الببتيدي في مستوى واحد (Coplanner)، مما يحد من عدد الهيئات الببتيدية المحتملة التي تحد أيضاً بالقوى غير التساهمية في الأشكال الذوابة من الببتيدات.

يجري تحديد تركيب الببتيد من الأحماض الأمينية بعد إجراء الحلمهة الحمضية، ويحتاج ذلك للتصحيح بسبب ضياع بعض الأحماض الأمينية. وتحدد البنية الأولية باستخدام طريقة «إدمان» الآلية التي تستطيع سلسلة بضع بيكومولات من الببتيد المنقى. وتؤكسد الروابط ثنائية السلفيد أو تختزل أولاً ؛ وتشطر الببتيدات الكبيرة في مواضع نادرة باستخدام كواشف مثل CNBr، وتنقى الببتيدات الناتجة بالترشيح الهلامي و HPLC ؛ ويمكن ربطها بعد ذلك بوساطة نهايتها الكربوكسيلية إلى حامل صلب لتسهيل سلسلتها. وتشمل العمليات الآلية التالية إجراء عمليات الكيمياء السائلة أو الكواشف الغازية واستعمال النواتج التي تسهل تنقية العينة وكشفها. ويمكن أن تجري سلسلة 40 ثمالة أمينية انتهائية بهذه الطريقة. ولتحديد ترتيب القطع الببتيدية في عديد الببتيد الأصلي تسلسل الببتيدات المتداخلة التي نحصل عليها من طرائق الشطر المختلفة. تم استبدال هذه الطريقة التقليدية بالجمع بين تقنيتي تنسيل الدنا (DNA) وسلسلته و FAB-MS والتطبيقات المحدودة لطريقة «إدمان» الآلية. وهكذا فإن سلسلة الدنا (DNA) والببتيد هي تقنيات تتمم بعضها بعضاً. وأخيراً، تفيد الطرائق الآلية أيضاً في إنشاء الببتيدات ذات البنية الأولية المعروفة والفعالية الحيوية الكاملة.

* **References :**

Allen G: Sequencing of proteins and peptides. In: *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*, 2nd ed. Burdon RH, Knippenberg PH (editors) Elsevier, 1989.

Bhwon AS: *Protein/Peptide Sequence Analysis: Current Methodology*. CRC Press, 1988.

Biemann K: Mass spectrometry of peptides and proteins. *Annu Rev Biochem* 1992;61:977.

Hunkapiller MW, Strickler JE, Wilson KJ: Contemporary methodology for protein structure determination. *Science* 1984;226:304.

Karger BL, Chu YH, Foret E: Capillary electrophoresis of proteins and nucleic acids. *Annu Rev Biophys Biomol struct* 1995;24:579.

Kent SBH: Chemical synthesis of peptides and proteins. *Annu Rev Biochem* 1988;57957.

Merrifield RB: Solid phase synthesis. *Science* 1986;232: 341.

Ozols J: Amino acid analysis. *Methods Enzymol* 1990;182: 587.

Regnier FE, Gooding KM: High performance liquid chromatography of proteins. *Anal Biochem* 1980;103:1.

Deutscher MP (editor): *Guide to Protein Purification. Methods in Enzymology*, vol 182, 1990.

Doolittle RF (editor): *Molecular Evolution: Computer Analysis of Protein and Nucleic Acid Sequences*. Methods in Enzymology, Vol 183, 1990.

Doolittle RF: Reconstructing history with amino acid sequences. *Protein Sci* 1992;1:191.

Sanger F: Sequences, sequences, and sequences. *Annu Rev Biochem* 1988;57:1.

Senko MW, McLafferty FW: Mass spectrometry of macromolecules: Has its time come now? *Annu Rev Biophys Biomol struct* 1994;23:763.

Stellwagen E: Gel filtration. *Methods Enzymol* 1990;182: 317.

Stoscheck CM: Quantitation of proteins. *Methods Enzymol* 1990;182: 50.

Strickler JE, Hunkapiller MW, Wilson KJ: Utility of the gas-phase sequencer for both liquid- and solid-phase degradation of proteins and peptides at low picomole levels. *Anal Biochem* 1984;140:553.

Wilson KJ: Micro-level protein and peptide separations. *Trends Biol Sci* 1989;14:252.

الفصل السادس

البروتينات: البنية والوظيفة

Proteins: Structure and Function

مقدمة:

من بين الخصائص المشتركة بين كافة البروتينات أن هناك قيوداً تفرضها الروابط التساهمية وغير التساهمية على هيئاتها (Conformations) المحتملة. ويناقش هذا الفصل البنى الثانوية والثالثية والرابعية للبروتين مع التركيز على القوى التي تمنحها استقرارها والطرائق الفيزيائية المستخدمة لتفحصها ودراستها. ومن المواضيع الأساسية في هذا السياق نذكر الحلز ألفا (α-helix) والصفيحة بيتا (β-sheet) واللفة بيتا (β-turn) والعروة (loop)؛ وكيفية تشكيل هذه البنى الثانوية للحقول (domains) والبنية الثالثية؛ وتجمع عديدات الببتيد في وحيدات (Subunits) البروتينات عديدة القسيمات (Multimeric proteins) ويدرس هذا الفصل طرائق تطوي البروتينات ودور الشابيرونينات (Chaperonins) والبروتينات الأخرى التي تسهل التطوي الصحيح والسريع للبروتينات داخل جسم الكائن الحي. وفي حين تنطبق معظم الخصائص والملاحظات السابقة على كافة البروتينات، إلا أن هناك بعض البروتينات النوعية التي تبدي بنى ثانوية ـ ثالثية متفردة تكسبها خصائص مميزة تسمح لها بالقيام بوظائف حيوية نوعية. وسنستعرض في هذا الفصل العلاقةَ الوثيقة بين بنية البروتين ووظيفته الحيوية بالنسبة إلى بروتينين ليفيين يقومان بأدوار بنيوية وهما فِبْرَوين الحرير (Silk fibroin) والكولاجين (Collagen). وسنعرض في

الفصول التالية العلاقة الوثيقة بين بنية البروتينَين الكرويين: الميوجلوبين والهيموجلوبين ووظيفتهما، وكذلك البروتينات التحفيزية التي تعرف باسم الإنزيمات (Enzymes).

الأهمية الطبية البيولوجية:

تقوم آلاف البروتينات الموجودة في الجسم البشري بوظائف لا يمكن عدها؛ ومن بين هذه الوظائف دورها كحوامل للڤيتامينات والأكسجين وثاني أكسيد الكربون، بالإضافة إلى أدوارها البُنيوية (Structural) والحركية (Kinetic) والتحفيزية (Catalytic) والإشارية (Signaling). ولذلك لن يكون مفاجئاً أن تظهر نتائج مريعة عند حصول طفرات في الجينات التي تُرمز البروتينات أو في مناطق الدنا(DNA) التي تتحكم بالتعبير الجيني (Gene expression) كما تحصل نتائج بالخطورة نفسها في حالات عوز أي من العوامل المساعدة الضرورية لنُضج (Maturation)البروتين؛ فمتلازمة إهلرز ـ دانلوس تمثل نموذجاً للعيب الوراثي في نضج البروتين، أما البَثَع (الإسقربوط: Scurvy) فهو عوز في عامل مساعد ضروري لنُضج البروتين (ڤيتامين C). ومن جهة أخرى، تتسبب التغيرات في البنية الثانوية ـ الثالثية للبروتينات، والتي تظهر بشكل مستقل عن التغيرات في البنية الأولية، بحدوث العديد من الأمراض الهامة كأمراض البريون (Prion disease) داء كرويتزفلد ـ ياكوب (CJOD) وداء الراعوش (Scrapie) واعتلال الدماغ البقري إسفنجي الشكل (داء «جنون البقر»). يتصف كل من هذه الأمراض بحدوث تغيرات عصبية باثولوجية تنجم عن ترسب بروتينات غير ذوّابة (مكونة من البروتينات من صفائح بيتا مرتبطة بروابط هيدروجينية) في اللُّيَيْفات النشوانية (Amyloid fibrils).

تصنَّف البروتينات بعدة طرق:

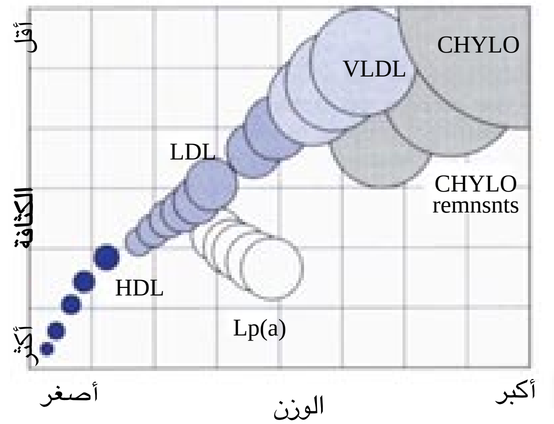
في واقع الأمر، لا يوجد نظام شامل ومقبول لتصنيف البروتينات، إلا أنه يمكن تصنيفها حسب بعض خصائصها كذوبانها أو شكلها أو وظيفتها الحيوية أو بنيتها

ثلاثية الأبعاد. وهناك نظام ذو استعمال محدود في الكيمياء الحيوية السريرية يُصَنِّف البروتينات إلى «ألبومينات» (Albumins) و «جلوبولينات» (Globulins) و«هستونات» (Histones) إلخ، وذلك اعتماداً على ذوبانها في المحاليل الملحية المائية. أما حسب شكلها العام، فلدينا البروتينات الكروية (Globular proteins) (كالعديد من الإنزيمات) التي تتميز بالتفاف سلاسلها الببتيدية وتَثَنيها بشكل مكتنز (Compactly)، بنِسَبها المحورية (نسبة الطول إلى العرض) التي تكون أقل من 10 (عادة أقل من 3-4)؛ ولدينا أيضاً البروتينات الليفيّة (Fibrous) التي تتجاوز نسبها المحورية القيمة 10.

وتصنف البروتينات أيضاً حسب وظائفها الحيوية إلى إنزيمات (نازعات الهيدروجين (Dehydrogenases)، كينازات (Kinases) وبروتينات التخزين (Storage proteins) (الفيريتين (Ferritin)، الميوجلوبين) والبروتينات المنظمة (البروتينات الرابطة للدنا (DNA) (DNA-binding proteins)، الهرمونات الببتيدية) وبروتينات بنيوية (الكولاجين، البروتيوجليكان) وبروتينات محصنة (عوامل تجلط الدم ((Blood clotting factors)، الجلوبولينات المناعية) وبروتينات ناقلة (الهيموجلوبين، البروتينات الشحمية البلازمية) والبروتينات القلوصة أو الحركية (الأكتين، التوبولين (Tubulin)).

وهناك أنظمة خاصة للتصنيف تميز بعض البروتينات المعقدة ذات الأهمية الطبية الكبيرة؛ فعلى سبيل المثال تسمى البروتينات الشحمية البلازمية (Plasma lipoproteins) حسب حركيتها الرحلانية في باهاء (pH) = 8.6 بالبروتينات الشحمية ـ المنشأ أو ألفا$_1$ أو ألفا$_2$ أو بيتا، وتسمى أيضاً الدقائق الكيلوسية (Chylomicrons) أو البروتينات الشحميّة وضيعة الكثافة (VLDL) أو البروتينات الشحمية خفيضة الكثافة (LDL) أو البروتينات الشحمية مرتفعة الكثافة (HDL) اعتماداً على تثفلها (Sedimentation) بالتنبيذ الفائق (Ultracentrifugation) (الشكل 6-1). ويمكن أن تُصنّف البروتينات الشحمية مناعياً أيضاً حسب الصمائم البروتينية (Apoproteins)، الموجودة فيها. هذا وقد قدم لنا التشابه في البنية ثلاثية الأبعاد ـ والذي كشف بشكل رئيسي بتصوير البلورات بالأشعة السينية (X-ray crystallography) أساساً بالغ الأهمية لتصنيف البروتينات. وعلى سبيل المثال،

تشترك البروتينات التي ترتبط بالنوكليوتيدات في احتوائها على حقل الارتباط بالنوكليوتيد (Nucleotide-binding domain) في بناها الثالثية.



الشكل 6-1 : كثافة البروتينات الشحمية وحجمها CHYLO= الدقائق الكيلوسية؛ VLDL= البروتينات الشحمية وضيعة الكثافة؛ LDL= البروتينات الشحمية خفيضة الكثافة؛ HDL= البروتينات الشحمية رفيعة الكثافة؛ Lp(a)=البروتينات الشحمية.

المستويات أو الرتب الأربع لبنية البروتين:

البنية الأولية:

البنية الأولية للسلسلة الببتيدية للبروتين هي ترتيب ارتباط الأحماض الأمينية مع بعضها بعضاً متضمنة موقع أي رابط ثنائي السلفيد؛ ويمكن تحديد هذه البنية بالطرائق المذكورة في الفصل الخامس.

إن عدد البروتينات التي جرت سلسلتها كبير جدا، ويزداد بسرعة كبيرة لدرجة أصبح معها من الصعب توفرها في الكتب المطبوعة، لكنها متوفرة في قواعد البيانات الإلكترونية لسلاسل البروتينات والتي يمكن الوصول إليها عن طريق الإنترنت. ومن قواعد المعلومات الهامة التي يتم تحديثها باستمرار نذكر (EMBL)

(مكتبة معلومات مختبرات البيولوجيا الجزيئية الأوربية) و GenBank (بنك معلومات تسلسل الجينات) وقاعدة بيانات السلسلة لمصادر تعيين البروتينات (Protein Identification Resource Sequence Database;PIR)

البنية الثانوية:

التهايؤ (Configuration) والهيئة (Conformation):

يطلق تعبير التهايؤ على العلاقة الهندسية بين مجموعة معينة من الذرات، ولا يمكن حدوث التحول فيما بين البدائل التهايؤية ((Configurational alternatives) كالتحول بين الألانين الميمن والألانين الميسر) إلا بتحطيم الروابط التساهمية وإعادة تشكلها.

أما تعبير الهيئة فيعبر عن البناء (Architecture) ثلاثي الأبعاد للبروتين والعلاقات الفراغية لكل ذرة من ذراته مع باقي الذرات الأخرى. والتحول في هذه الحالة (أي من هيئة إلى أخرى) لا يشمل تحطيم الروابط التساهمية فقط، بل أيضاً تحطيم القوى اللاتساهمية التي تثبت عادة الهيئة البروتينية (كالروابط الهيدروجينية والملحية والتآثرات الكارهة للماء) وإعادة تشكلها. وبالرغم من التوجيه والتّحديد الذي تمارسه الإعاقة الناجمة عن التآثرات الفراغية على الهيئة البروتينية، فإن الدوران الحر حول ثلثي الروابط التساهمية للسلسلة الرئيسية لعديد الببتيد (الشكل 5-8) يسمح باحتمال وجود عدد كبير جداً من الهيئات المختلفة للبروتين؛ ومع ذلك، فإن عدداً قليلاً فقط من هذه الهيئات يكون ذا أهمية من الناحية الوظيفية الحيوية.

تعمل قوى مختلفة على تثبيت البُنى البروتينية:

تعمل العديد من التآثرات غير التساهمية ـ الضعيفة عندما تكون مفردة، على تثبيت هيئة البروتين. وتشمل هذه القوى الروابط الهيدروجينية والتآثرات الكارهة للماء والتآثرات الكهربائية الراكدة وقوى فان در ڤالس.

الروابط الهيدروجينية:

تتوضع الثمالات ذات الزمر "R" القطبية عادة على سطح البروتينات الكروية حيث تشكل روابط هيدروجينية بشكل رئيسي مع جزيئات الماء، أما في المناطق الأخرى من البروتين فتتشكل الروابط الهيدروجينية فيما بين الثمالات الحمضية الأمينية لهيكله الأساسي.

التآثرات الكارهة للماء:

تحدث التآثرات الكارهة للماء بين الزمر "R" غير القطبية للثمالات الحمضية الأمينية التي تتوضع عادة داخل البروتينات الكروية النموذجية. ويوجه تشكل هذه التآثرات بالاعتلاج (Entropy) حيث أن الشكل الكروي يقلل من مساحة سطح التماس مع الوسط المحيط. إن تركز الثمالات غير القطبية في داخل البروتين ينقص من عددها على سطحه، ويضاعف فرص تشكيل الروابط الهيدروجينية فيما بين جزيئات الماء المحيطة به، وهي العملية التي تترافق بزيادة الاعتلاج. وعلى العكس من ذلك، تفضل البيئة غير القطبية للأغشية البيولوجية (Biological membranes) أن تكون الثمالات السطحية كارهة للماء لتشارك زمرها R غير القطبية في التآثرات الكارهة للماء مع السلاسل الجانبية الألكيلية (Alkyl) لإسترات الأحماض الدهنية لطبقتي الغشاء.

التآثرات الكهربائية الراكدة:

تتشكل التآثرات الكهربائية الراكدة (Electrostatic) أو الروابط الملحية بين الزمر المشحونة بشكل متعاكس مثل المجموعتين الطرفيتين الكربوكسيلية والأمينية للببتيدات والزمر "R" المشحونة للثمالات الحمضية الأمينية القطبية. وفي حين تميل كل الزمر المشحونة للتّوضع على سطح البروتينات الكروية، فإن هناك استثناءات، فالزمر القطبية النوعية التي تقوم ببعض الوظائف الحيوية الأساسية قد تتوضع في فلوح (Clefts) داخل البروتين. وبما أن الثمالات القطبية تستطيع المشاركة في

التآثرات الأيونية أيضاً، فإن وجود الأملاح (كلوريد البوتاسيوم (KCl مثلاً) سيؤدي إلى تقليل التآثرات الأيونية بين الثمالات السطحية.

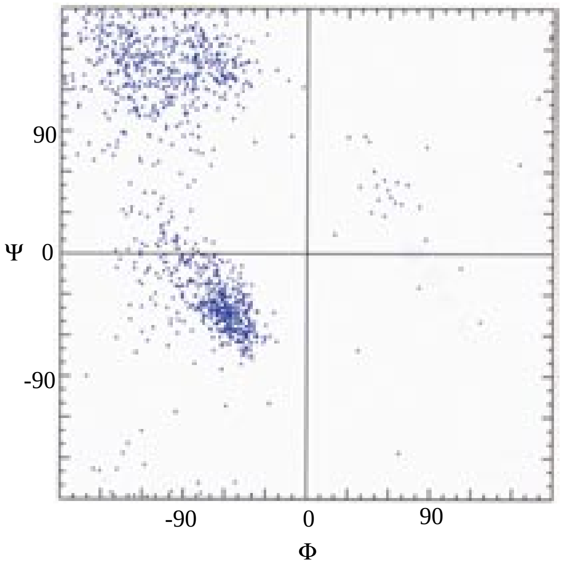
تآثرات فان در ڤالس:

قوى فان در ڤالس هي قوى ضعيفة جداً عندما تكون مفردة وتعمل فقط على مسافات قصيرة جداً، وتتكون من عناصر الجذب (Attractive) والتنافر (Repulsive) وتشمل القوة الجاذبة التآثر بين الأقطاب المزدوجة (Dipoles) المحرضة والمتشكلة نتيجة التّموجات الآنية في التوزع الإلكتروني للذرات المتجاورة. أمّا التّنافر فيبدأ عندما تتقارب ذرتان لدرجة تداخل مداريهما الإلكترونيين. وتدعى المسافة التي تكون فيها القوة الجاذبة أعظمية وقوة التنافر أصغرية بمسافة تماس فان در ڤالس. ويكون للذرات أنصاف أقطار فان در ڤالس مميزة لكل منها، وتساوي مسافة تماس فان در ڤالس المثلى بين ذرتين مجموع نصفي قطري فان در ڤالس لكليهما.

تحد الروابط الببتيدية من عدد الهيئات الثانوية المحتملة:

يكون الدوران ممكناً فقط حول اثنتين من الروابط الثلاثة التساهمية التي تشكل الهيكل الأساسي لعديد الببتيد في البروتينات. وتعمل خاصية الرابطة المزدوجة الجزئية للرابطة التي تصل بين كربون الكربونيل والنتروجين ألفا للرابطة الببتيدية على الحد بشكل واضح من عدد الهيئات المحتملة للذرات المرتبطة بها والتي تصبح في مستوى واحد (Coplanar) (الشكل 5-8). ويكون الدوران الحر ممكناً فقط حول الروابط التي تربط الكربون ألفا (C_α) إلى كربون الكربونيل (C_o) والنتروجين. وتدعى الزاوية حول الرابطة Ca -N بالزاوية فاي (phi "Φ") والزاوية حول الرابطة C_α - C_o بالزاوية ساي (psi "Ψ") ، ولا يسمح باجتماع زاويتي فاي وساي الذي يؤدي إلى إعاقة فراغية بين الذرات غير المرتبطة. وعندما تعرف كل الزوايا فاي وساي، يمكن معرفة هيئة كل ذرات السلسلة الأساسية أو هيكل عديد الببتيد

الأساسي؛ ولذلك يبدأ تحليل معلومات تصوير البلورات بتحديد الزوايا فاي وساي للسلاسل الأساسية. وقد استخدم راماشاندران (G. N. Ramachandran) مخططاً بيانياً لزوايا فاي مقابل زوايا ساي لتبيان كل من القيم المسموح بها والقيم العديدة غير المسموحة (الشكل 6-2).



الشكل 6-2 : مخطط راماشوندران للزوايا فاي "Φ"و ساي "Ψ" للسلسلة الأساسية لحوالي 1000 من الثمالات غير الجليسين في ثمانية بروتينات جرى تحليل بنيتها بميز عال. وتشير النقاط إلى نماذج الاتحاد الممكنة وتشير المسافات إلى نماذج الاتحاد غير الممكنة للزوايا فاي وساي.

تتميز البنية الثانوية بوجود هيئات نظامية وأخرى غير نظامية:

تكون هيئات الهياكل الببتيدية للبروتينات بنيتها الثانوية التي اقترح وجودها في البداية على أرضية نظرية ثم أثبتت بواسطة تحليل البنية البلورية بالأشعة السينية.

ويتحدد نوع البنى الثانوية بخاصية الرابط المزدوج الجزئي للرابطة الببتيدية (الشكلان 5-7 و 5-8) وبشكل الزمر R وحجمها. وتتألف البُنى الثانوية من مجموعة من الوحدات النظامية المتكررة (الحلزونات ألفا ـ (α -helices) والصفائح بيتا (β- sheets) والحنيات بيتا (β-bends) ومجموعة من الهيئات غير النظامية تدعى العُرى (Loops) أو الوشائع (Coils).

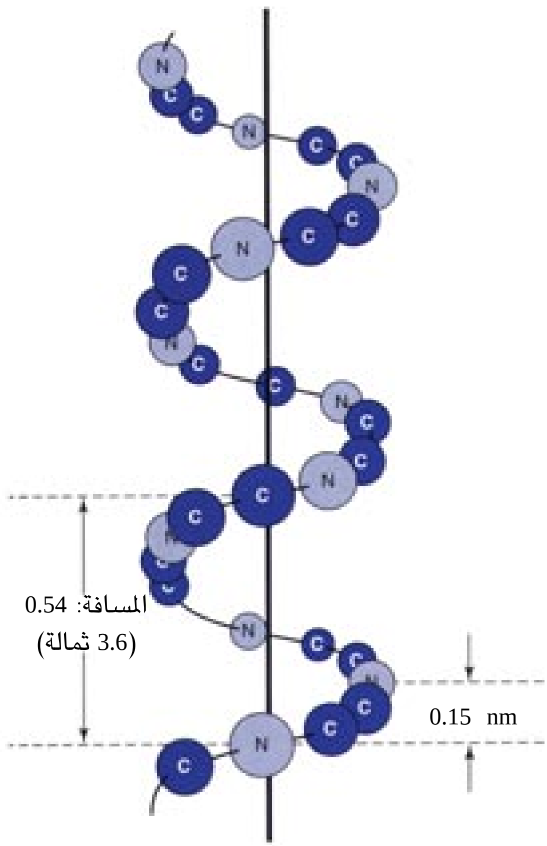
الحلزون ألفا:

إذا التف الهيكل الأساسي لعديد الببتيد بمقادير متساوية حول كل من ذرات الكربون ألفا سيشكل وشيعة أو حلزوناً. وتميز أنماط الحلزونات ـ والتي تتشكل نتيجة الاختلاف في مسافات الالتفاف واتجاهاته ـ بعدد (*n*) الثمالات الحمضية الأمينية في كل لفة وبالطبقة ("pitch "p) أو المسافة التي ينموها الحلزون في كل لفة بالنسبة لمحوره. وبما أن هذه الحلزونات تتشكل أصلاً من الأحماض أمينية غير متناظرة مرآتياً (Chiral) فهي تبدي عدم تناظر مرآتي (Chirality) هذا يعني أن الحلزون إما أن يكون متجهاً لليمين (أيمني) (Right-handed) أو لليسار (أيسري) (Left-handed) ولإيضاح الحلزون الأيمني، ارفع يدك اليمنى بحيث تكون راحة اليد للأعلى والأصابع منحنية قليلاً والإبهام متجه بعيداً عنك. عندها يشير الإبهام إلى اتجاه النهاية الكربوكسيلية لعديد الببتيد للحلزون الأيمني الذي يكون توجهه باتجاه أصابعك المنحنية.

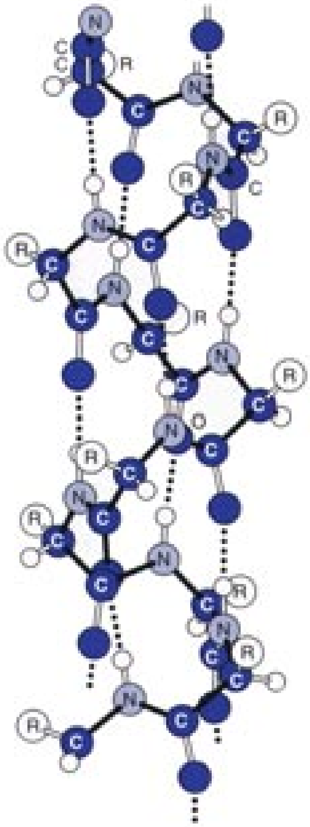
وبالرغم من إمكانية تشكل حلزونات أيسرية من عديدات الببتيد المخلقة من الأحماض الأمينية الميمنة (D-amino acids)، إلا أن التآثرات الفراغية لزمر "R" للثمالات الحمضية الأمينية الميسرة (L-amino acids) تملي عدم حدوث الحلزونات الأيسرية في البروتينات.

بالإضافة إلى ذلك، تتعلق أنماط حلزونات عديد الببتيد الموجودة في البروتين بعوامل فراغية أخرى وبعدد الروابط الهيدروجينية وتآثرات فان در ڤالس الممكنة التي تستطيع أن تشكل وتثبت نمط الحلزون المعني.

وللحلزون ألفا الزوايا فاي و ساي ونمط الربط الهيدروجيني التي تؤمن له ثباتاً أعظمياً. وتحوي الحلزونات في أي بروتين 4-50 ثمالة (المتوسط نحو 12 ثمالة). والمعالم الأساسية للحلزون ألفا (الشكل 6-3) هي $n = 3.6$ ثمالة / لفة و $p = 0.54$ نم (5.4 أنج)، وتكون المسافة على محور الحلزون التي تفصل ذرات السلسلة الأساسية المتماثلة للثمالات المتجاورة مساوية للقيمة 0.15 نم. تتوجه الزمر "R" نحو خارج الحلزون (الشكلان 6-4 و 6-5) مما يقلل من التداخل الفراغي المتبادل.



الشكل 6-3 : توجه ذرات السلسلة الأساسية للببتيد حول محور الحلزون ألفا.



الشكل 4-6 : تعمل الروابط الهيدروجينية (المنقطة) المتشكلة بين ذرات H و O على تثبيت عديد الببتيد بالهيئة الفراغية الحلزونية ألفا.

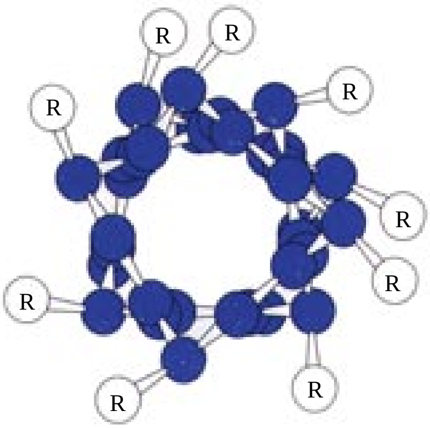
تثبت الروابط الهيدروجينية وقوى فان در فالس الحلزون ألفا:

بما أن الحلزون ألفا هو الهيئة الفراغية الأضعف طاقياً والأكثر ثباتاً لسلسلة عديد الببتيد، لذلك فهو يتشكل تلقائياً. وتنجم ثباتية الحلزون ألفا بالدرجة الأولى عن تشكل أكبر عدد ممكن من الروابط الهيدروجينية، ويعمل نيتروجين الببتيد في ثمالة ما من الحلزون كمعط للهيدروجين أما المتقبل فيكون أكسجين كربونيل الثمالة الرابعة قبل ثمالة النيتروجين في البنية الأولية (الشكل 4-6).

ولهذه الروابط الهيدروجينية مسافة مثالية بين ذرتي O و N وتبلغ 28 نم (2.8 أنج). وتمنح تآثرات فان در ڤالس ثباتاً إضافياً للحلزون حيث تكون الذرات المكدسة (Packed) جيداً في قلب الحلزون ألفا واقعة على تماس قوى فان در ڤالس الواحدة مع الأخرى عبر محور الحلزون ألفا.

تكون ثمالات الألانين والجلوتامين واللوسين والميثيونين في الحلزون ألفا أكثر شيوعاً من ثمالات الجليسين والبرولين والسيرين والتيروزين.

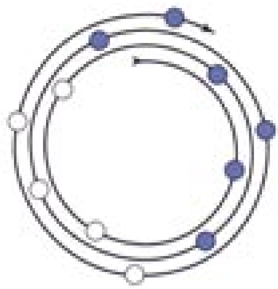
بما أن النتروجين الببتيدي لثمالة البروليل لا يستطيع تشكيل رابطاً هيدروجينياً، فإن البرولين يناسب فقط اللفة الأولى من الحلزون ألفا، ووجوده في أي موقع آخر سيؤدي إلى حدوث انحناء في الحلزون. ومع ذلك فليست كل الانحناءات في الحلزون ألفا ناجمة عن ثمالات البروليل، بل تحصل الانحناءات في كثير من الأحيان عند ثمالات الجليسين أيضًا.



الشكل 6-5 : منظر لأسفل محور الحلزون ألفا. تكون السلاسل الجانبية (R) خارج الحلزون؛ وتكون أنصاف أقطار فان در ڤالس للذرات أكبر مما هي في الشكل، وهكذا لا يكون هناك إطلاقاً فراغات ضمن الحلزون.

قد تكون الحلزونات ألفا متقابلة الزمر (Amphipathic):

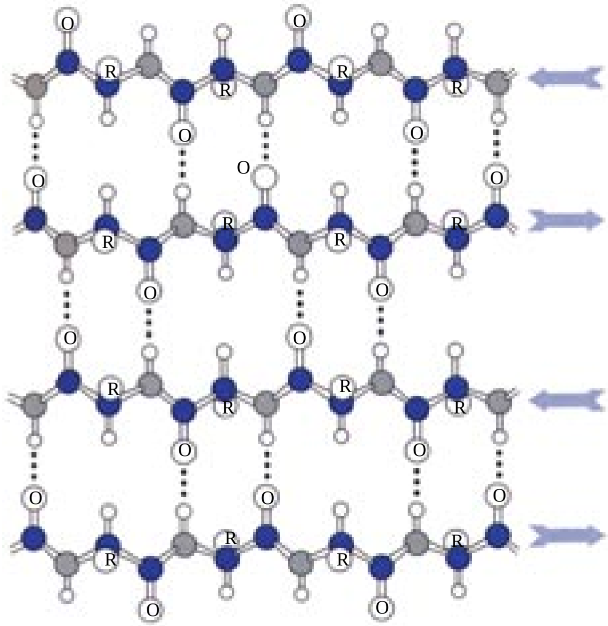
في حين توجد البنى الحلزونية بشكل عام على سطح البروتين، قد تنطمر أحياناً كلياً أو جزئيا في داخله. والحلزون المتقابل الزمر هو حالة خاصة تتغير فيه الثمالات بين كارهة ومحبة للماء كل 3 أو 4 ثمالات (الشكل 6-6) ويتشكل عند وجود الحلزون ألفا على تماس مع بيئتين إحداهما قطبية والأخرى غير قطبية في الوقت نفسه. وتوجد الحلزونات متقابلة الزمر في البروتينات الدهنية البلازمية وبعض الهرمونات عديدة الببتيد والسموم (Venoms) والمضادات الحيوية (Antibiotics) والبروتين السكري لفيروس العوز المناعي البشري (Human immunodeficiency virus;HIV) إنزيمات كيناز البروتين المنظمة بالكالمودولين (Calmodulin).



الشكل 6-6 : التمثيل الحلزوني للأحماض الأمينية في الحلزون ألفا متقابل الزمر. تكون حلزونات صمائم البروتينات الشحمية البلازمية متقابلة الزمر أي أن أحد الوجهين قطبياً والآخر لا قطبي. وقد مثلت الثمالات على أبعاد قدرها 100 درجة (360 درجة/ 3.6 ثمالة = 100 درجة لكل ثمالة) إذا نظر إليها من أعلى الحلزون. تمثل الكرات الزرقاء الثمالات غير القطبية، أما الكرات البيضاء فتمثل الثمالات القطبية.

تتشكل الصفائح بيتا من أحماض أمينية موجودة في مناطق مختلفة:

تمثل البنية الصفيحية المتثنية بيتا (β -pleated sheet) الهيئة الفراغية النظامية الثانية الموجودة في معظم البروتينات؛ ويشير الحرف بيتا إلى أن هذه البنية كانت الثانية اكتشافاً بعد الحلزون ألفا. ويصف مصطلح «الصفيحة المتثنية» المظهر الجانبي لهذه البنية. ويتبدل الكربون ألفا والزمرة R المرتبطة به بين أن يكون أعلى قليلاً أو أخفض قليلاً من مستوى الهيكل الأساسي لعديد الببتيد (الشكل 6-7).



الشكل 6-7 : نموذج للصفيحة المتثنية بيتا متعاكسة التوازي. تتجه الطيقان المتجاورة في الاتجاه المعاكس (انظر الأسهم) . تتوضع الزمر "R" أعلى وأسفل مستوى الصفيحة. لاحظ توضع ذرات الكربون ألفا المتتالية تماماً أعلى وأسفل هذا المستوى لتُعطي الشكل المتثني. وتثبت روابط الهيدروجين المتوزعة أزواجاً الهيئة الفراغية الصفيحية بيتا. وفي الصفائح المتثنية المتوازية (انظر الشكل 6-8) تتجه السلاسل المتجاورة في الاتجاه نفسه.

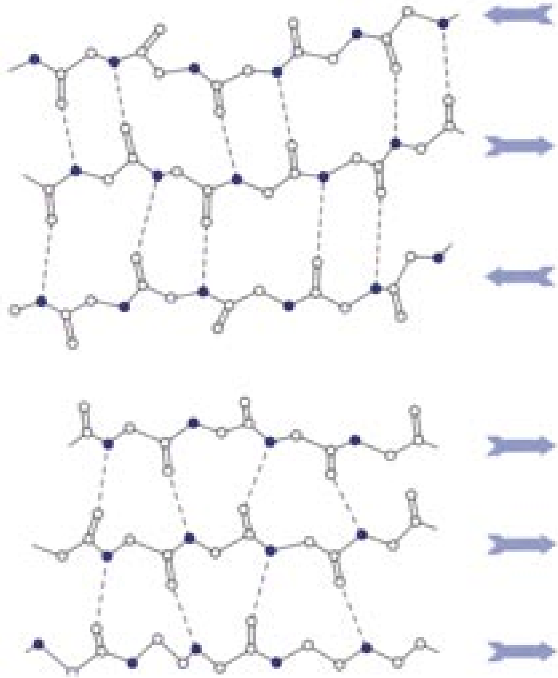
وكما في الحلزون ألفا، يكون للصفائح بيتا زوايا فاي و ساي متكررة وتثبت بعدد أعظمي من الروابط الهيدروجينية. وترتبط عديدات الببتيد المصطفة الواحدة إلى جانب الأخرى بالروابط الهيدروجينية المتشكلة بين ذرات الهيدروجين المرتبطة بنتروجينات الببتيد وأكسجين الكربونيل للطيقان (Strands) المتجاورة. وفي حين تحوي الحلزونات ألفا ثمالات متجاروة في البنية الأولية، فإن الصفائح تشمل امتدادات من خمسة إلى عشرة أحماض أمينية من مناطق مختلفة من البنية الأولية. وبعكس البنية الحلزونية المكتنزة، يكون هيكل الببتيد الأساسي في الصفيحة بيتا مبسوطاً بشكل كامل تقريباً.

قد تكون البنية الصفيحية المتنية بيتا متوازية (Parallel) أو عكسيَة التوازي (Antiparallel):

يظهر (الشكل 6-7) الطيقان عكسية التوازي للصفائح المتثنية بيتا. وتتقدم السلاسل الببتيدية المتجاورة للصفيحة عكسية التوازي في اتجاهين متعاكسين بينما تكون سلاسل الصفيحة المتوازية في الاتجاه نفسه. وباستثناء الطيقان المحيطية، تتشكل جميع الروابط الهيدروجينية المحتملة ويكون لكل صفيحة نمط مميز من هذه الروابط (الشكل 6-8).

وتعمل الأزواج المتناوبة للروابط الهيدروجينية الضيقة والواسعة على تثبيت الصفائح متعاكسة التوازي. وتكون الروابط الهيدروجينية التي تثبت الطيقان المتوازية ممتدة، لكن بوجود زوايا بين الطيقان.

وبشكل عام، تلتف جميع الطيقان الصفيحية بيتا في الاتجاه اليميني لتشكل النواة المركزية للعديد من البروتينات الكروية. وقد يشارك 2-15 طاقاً في البنية الصفيحية بيتا، كما أنه من الشائع أن توجد مناطق مختلطة من الصفائح المتوازية والعكسية التوازي. ولكن ـ ربما بسبب الثباتية المنخفضة والمجهولة السبب ـ يندر وجود أقل من خمسة طيقان بيتا متوازية.



الشكل 6-8 : زوايا الروابط والفراغات بين الروابط الهيدروجينية للصفائح المتثنية بيتا المتوازية ومتعاكسة التوازي. تشير الأسهم إلى اتجاه كل طاق؛ وقد مثلت ذرات النتروجين ألفا المعطية للهيدروجين بدوائر زرقاء، ولتوضيح الشكل جرى حذف الزمر "R" والهيدروجينات ألفا. في الأعلى: الصفائح متعاكسة التوازي بيتا. تتناوب أزواج الروابط الهيدروجينية بين التقارب والتباعد وتتوجه بشكل عمودي تقريباً على الهيكل الأساسي لعديد الببتيد. في الأسفل: الصفائح بيتا المتوازية. تكون الروابط الهيدروجينية متباعدة، ولكنها مائلة باتجاهات مختلفة.

تشكل مناطق العروة مقرات ارتباط المستضدات (Antigen-binding sites):

توجد نصف ثمالات البروتينات الكروية النموذجية تقريباً بشكل حلزونات ألفا أو صفائح بيتا، أما الباقي فيوجد بشكل «عرى» أو «وشائع» لا تقل أهميتها من الناحية الحيوية ـ رغم وجودها بشكل غير منتظم ـ عن البُنى الثانوية المنتظمة. ويجب ألا نخلط بين العروة أو الوشيعة وبين الوشيعة العشوائية (تعبير يصف الهيئات الفراغية غير المنتظمة وغير الهامة حيوياً التي توجد في البروتينات المتمسخة). وتشكل مناطق العرى بأحجامها وأشكالها المختلفة الخصائص الرئيسة لسطح البروتينات. ولكونها غنية بالثمالات القطبية والمشحونة ورغم نقص البُنى الثانوية النظامية، تقوم العرى المنعطفة على شكل حرف U (ملقط الشعر: Hairpin) بربط الصفائح بيتا عكسية التوازي المتجاورة عند تعرضها للمذيبات. وغالباً ما تشكل مناطق العرى ذات البنى الأولية والأطوال المختلفة مواقع التآثر مع اللجين (Ligand) في البروتينات ومواقع ارتباط المستضدات في الأضداد.

البروتينات الكروية تحوي الحَنيات بيتا:

تشكل البروتينات الكروية النسبة الأكبر من بروتينات العصارة الخلوية (Cytosol) وتتميز بكونها بنى مكتنزة (Compact) وتنجم هذه الميزة عن كون سلاسلها الببتيدية تغير اتجاهاتها بشكل كبير، الأمر الذي توضحه البنى فائقة التنظيم: حلزون ـ عروة ـ حلزون. وينجز تغيير اتجاه الصفائح بيتا بواسطة البنية المعروفة باسم اللفة بيتا (β-turn) أو الحنية بيتا (β- bend) التي غالباً ما تقوم بوصل نهايات الطيقان المتجاورة للصفائح بيتا. تتألف هذه الحنية من 4 ثمالات يرتبط أولها برابعها بواسطة الروابط الهيدروجينية وينجم عنها دوران بمقدار 180 درجة؛ وتحدث هذه الحنيات بشكل رئيسي على سطح البروتين وغالباً ما تحتوي على البرولين والجليسين مما يسهل حدوثها، فتهايؤ الروابط التي تتضمن نتروجين البرولين هي بطبيعة الحال في الوضعية المقرونة (*cis*) (انظر الشكل 6-15) أما الجليسين فهو صغير ومرن.

وتجدر الإشارة هنا إلى أن كل الروابط الببتيدية بين الأحماض الأمينية تقريباً هي من النوع المفروق (*trans*) وأن 6 ٪ من الروابط التي تتضمن البرولين هي من النوع المقرون، ومعظم هذه الأخيرة يوجد في الحنيات بيتا.

قد تحوي البروتينات مناطق غير منتظمة (Irregular):

ليست كل الثمالات موجودة بالضرورة ضمن البنى الثانوية المنتظمة. وتأخذ بعض المناطق النوعية للعديد من البروتينات هيئات فراغية متعددة في المحاليل وهي ـ بالتالي ـ غير منتظمة حقيقة. ومن الأمثلة على ذلك نذكر الزمر "R" الطويلة لثمالات الليسيل وأجزاء من النهايات الكربوكسيلية والأمينية للعديد من عديدات الببتيد. يؤمن هذا الاضطراب مرونة لعديد الببتيد ويفترض أن لها دوراً حيوياً فعّالاً. هذا وتنتظم العديد من هذه المناطق غير المنتظمة عندما ترتبط بها لجائن نوعية، والمثال الشائع لذلك هو تثبيت المناطق غير المنتظمة للمقرات الحفازية (Catalytic sites) للعديد من الإنزيمات عند ارتباط اللجين (Ligand) بها.

البنية الثالثية:

تصف المخططات الترسيمية البنى البروتينية وتبسطها:

يؤدي الكم الكبير من المعلومات التي تقدمها الأشكال والمخططات حول كافة ذرات البروتين إلى إعاقة دراسة كامل مظاهر البنية البروتينية، ولذلك فإننا نستخدم أشكالا توضيحية مبسطة ومناسبة لعرض المظاهر البنيوية. وتضم الرموز التي نستخدمها كلاً من الأسطوانة للدلالة على الحلزون ألفا، والأسهم العريضة للدلالة على الطيقان بيتا، والشكل المشابه للشرائط للدلالة على باقي البنى كالحنيات بيتا والعرى.

يمكن للبنى الثانوية أن تشكل أشكالاً أو بُنى فوق ثانوية (Supersecondary structure):

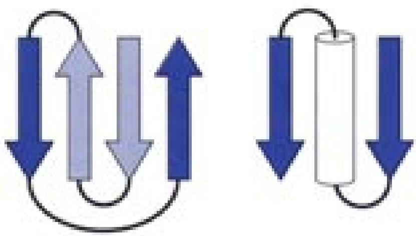
تعمل الأشكال البنيوية الثانوية (الحلزونات ألفا أو الصفيحات بيتا) في العديد من البروتينات الكروية على تشكيل «بنى فوق ثانوية» واضحة المعالم. ويظهر (الشكل 6-9) عدداً من هذه البنى:

1 – $\beta-\alpha-\beta$: طاقان من الصفائح بيتا متصلان بحلزون ألفا.

2 – العرى بيتا المنعطفة على شكل حرف U أو ملقط الشعر بيتا (β-hairpin) صفائح بيتا متعاكسة التوازي مرتبطة بعروة قصيرة.

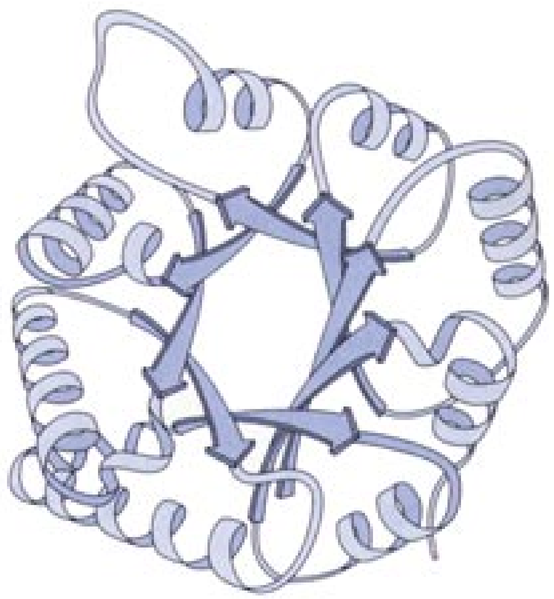
3 – المفتاح اليوناني (Greek Key): وتشير تسميته إلى شبهه ببعض الرسوم التزيينية على الأواني اليونانية القديمة.

وقد تتكرر هذه الأشكال فوق الثانوية لتشكل بنى مميزة كما يحدث عند التكرار المنتظم لوحدات $\beta-\alpha-\beta$ في البروتين بكامله (الشكل 6-10).



الشكل 6-9 : الأشكال البنيوية فوق الثانوية. تكون الحلزونات ألفا والصفائح المتثنية بيتا للعديد من البروتينات الكروية مرتبة في وحدات متكررة كالمفتاح اليوناني (على الأيسر) أو البنية ما فوق الثانوية بيتا ـ ألفا ـ بيتا (في الأيمن).

وتعبر تسمية «البنية الثالثية» عن العلاقة الفراغية بين المكونات البنيوية الثانوية. وغالباً ما تنتظم البنى الثانوية وفوق الثانوية للبروتينات الكبيرة في حقول (Domains)، التعبير الذي يشير إلى الوحدات المكتنزة المتصلة بالهيكل الأساسي لعديد الببتيد. ويحصل تطوي عديد الببتيد ضمن الحقل الواحد عادة بشكل مستقل عن تطوي الحقول الأخرى. وتصف البنية الثالثية العلاقات بين هذه الحقول، والطرق التي من خلالها يؤدي تطوي البروتين إلى إحداث تقارب بين الأحماض الأمينية المتباعدة أصلاً في البنية الأولية، وأخيراً الروابط التي تثبت هذه الهيئات الفراغية.



شكل 10-6 : البنية الثالثية. تبدو في الشكل مصاوغة التريوز فسفات وقد بنيت من أربع وحدات من البنية بيتا ـ ألفا ـ بيتا والتي تأتي متتابعة في البنيتين الأولية والثالثية.

تحتوي عديدات الببتيد الكبيرة على حقول متميزة:

قد تنتظم البنية الثالثية ـ الثانوية، خاصة لعديدات الببتيد الكبيرة، في وحدات متصلة لكنها مستقلة نسبياً من الناحية البنيوية تدعى الحقول (Domains). تقوم هذه الحقول عادة بوظائف مختلفة كربط اللجائن النوعية. وغالباً ما تكون اللجائن على تماس مع ثمالات موجودة في حقل واحد، لكن قد تكون هذه الثمالات في أكثر من حقل فتستقر اللجائِن على السطح الفاصل بين هذه الحقول. وفي البروتينات عديدة المواحيد (Multimeric) قد تربط ثمالات من حقول موجودة في وحيدات مختلفة بعض اللجائن (كالتمائم الإنزيمية مثلاً) على السطوح الفاصلة بينها والتي تتكون من ثمالات موجودة في الوُحَيْدات المختلفة.

تربط الروابط الكهربائية الراكدة بين الثمالات السطحية:

تربط الروابط الملحية (الكهربائية الراكدة) المجموعات المتعاكسة في الشحنة للثمالات "R" والمجموعات المشحونة ألفا للثمالات الانتهائية الكربوكسيلية والأمينية، فمثلا المجموعة "R" لليسين (الشحنة الصافية +1 في الباهاء (pH) الفيزيولوجية) والأسبارتات أو الجلوتامات (الشحنة الصافية –1) يمكنها أن تتآثر كهربائياً لتسهم في تثبيت البروتينات.

تؤمن الروابط ثنائية السلفيد ثباتاً إضافياً:

بالإضافة إلى الروابط الببتيدية، يمكن أن تتشكل الروابط التساهمية ثنائية السلفيد بين ثمالات السستيين الموجودة في عديد الببتيد نفسه أو عديدات ببتيد مختلفة. وتؤمن هذه الروابط ثنائية السلفيد ثباتاً إضافياً للهيئات الفراغية النوعية للبروتين كما في الإنزيمات (مثل الريبونُوكلياز) والبروتينات البنيوية (مثل الكيراتين).

ترتبط التآثرات الكارهة للماء الثمالات الداخلية:

ترتبط السلاسل الجانبية غير القطبية للأحماض الأمينية داخل البروتينات الكروية. ورغم كون هذه الارتباطات ضعيفة جداً عندما تكون مفردة، يشير عددها الكبير إلى أن التآثرات الكارهة للماء تساهم بشكل ملحوظ في الحفاظ على بنية البروتين.

يعطينا تصوير البلورات بالأشعة السينية (X-ray crystallography) بنى ثلاثية الأبعاد للبروتين:

لا يمكن لنا على الإطلاق إنكار ما قدمته لنا تقنية تصوير البلورات بالأشعة السينية في مجال فهمنا لبنية البروتين. تتصف هذه التقنية بكونها مستهلكة للوقت ومكلفة مادياً وتتطلب الكثير من التدريب النوعي، ومع ذلك فقد استخدمت وأظهرت لنا البنية ثلاثية الأبعاد لأكثر من ألف من البروتينات. ويتطلب هذا الأسلوب بلورات كبيرة من البروتين المرتب بشكل جيد والحاوية على صف منتظم التكرار من جزيئات متماثلة تودي إلى انعراج (Diffraction) قوي في الأشعة السينية. وعند توجيه حزمة من الأشعة السينية أحادية اللون على بلورة مرتبة جيداً، فإنها تؤدي إلى انعراج هذه الحزمة بنموذج يمكن من خلاله معرفة بنية كل جزيء على حدة.

يعد إنتاج البلورات عملية مستهلكة للزمن:

يعتمد تيسر تصوير البلورات البروتينية ودقته على حد ميز (Resolution) البلورة. وتحتوي البلورات البروتينية عادة على الماء بنسبة نحو 50 ٪، وهي أقل قساوة من بلورات الجزيئات الصغيرة ولها حدود ميز تبلغ نحو 2-3.5 أنج بشكل نموذجي. وتنمى البلورات عموماً في القطرة المعلقة (Hanging drop)، ولذلك توضع بضعة ميكروليترات من محلول مركز مدروء من البروتين على ساترة (Cover slip) وتُقلب الساترة وتوضع على مستودع يحتوي على محلول ملحي أو من الجليكول عديد الإيثيلين (Polyethylene glycol). وعندما ينتشر الماء من القطرة إلى المحلول

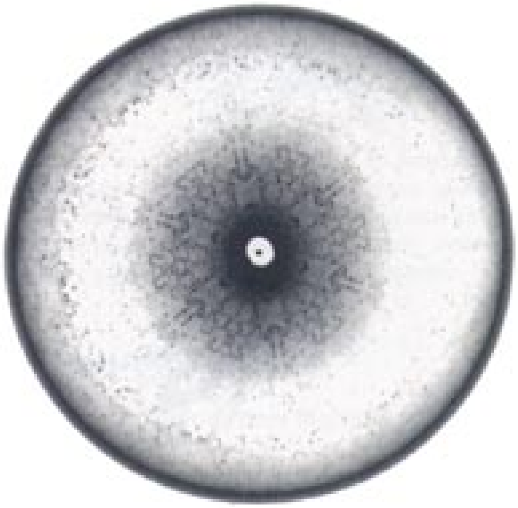
في المستودع يصبح البروتين مفرط الإشباع شيئاً فشيئاً، ويترافق ذلك مع تبلور مثالي. ويكون نمو البلورات بوجه عام بطيئاً وقد يستغرق عدة شهور. ويعتمد نمو البلورات البروتينية المناسبة بشكل كبير على الشروط المستخدمة ـ تركيز البروتين والباهاء (pH) ودرجة الحرارة وطبيعة المذيب وقوته الأيونية...إلخ ـ والتي يمكن تغييرها للحصول على شروط تنجم عنها بلورات بقطر 0.5 مم أو أكثر.

تشعّع البلورات لإنتاج نماذج الانعراج:

تعرض البلورة الموضوعة في أنبوب شعري لحزمة من الأشعة السينية أحادية اللون وتدار بحيث تنتج الحزمة الساقطة كافة نماذج الانعراج المحتملة. ويحتاج الأمر لعدة بلورات لأن لكل منها عمراً محدوداً في حزمة الأشعة السينية، فالأشعة السينية تخرب البروتين وجزيئات المذيب مما يؤدي إلى إنتاج جذور حرة تحدث المزيد من التخريب البروتيني. وبما أن الحرارة تتولد أيضاً، يمكن أن تبرد البلورات لزيادة عمرها المفيد. وتؤمن الأشعة السينية إما من مصعد دوار مولد للأشعة السينية، أو من حلقة تخزين سينكروترونية (Synchrotron storage ring). ويعطي مولد الأشعة السينية بالمصعد الدوار، وهو صفيحة معدنية دوارة تقذف بالإلكترونات، أشعةً سينية أحادية اللون (ذات طول موجي واحد).

وتنتج الأشعة السينية متعددة الألوان ـ والأكثر قوة بكثير من الأولى ـ في حلقات تخزين السينكروترون بتحريك الإلكترونات بسرعات قريبة من حركة الضوء عبر مستوحد اللون (Monochromator) أولاً لاختيار الأشعة السينية أحادية اللون. ثم تتبعثر الأشعة السينية بنماذج تعتمد على كثافات الإلكترونات في مختلف أجزاء البروتين. وتسجل نماذج الانعراج الناتجة على فيلم فوتوغرافي أو بعدّاد أشعة يدعى مكشاف المناطق (Area detector) (الشكل 6-11).

وبعد ذلك تقاس كثافات الانعراج الأعظمي وتحلل حسابياً وتستخدم لوضع خرائط لكثافة الإلكترونات.



شكل 6-11 : مثال عن صورة فوتوغرافية معالجة بالأشعة السينية. ما يشاهد هو نموذج انعراج مأخوذ على طول المحور ثلاثي التضاعف (III) للبلورات المكعبة لمختزلة HMG-CoA من الزائفة الميڤالونية.

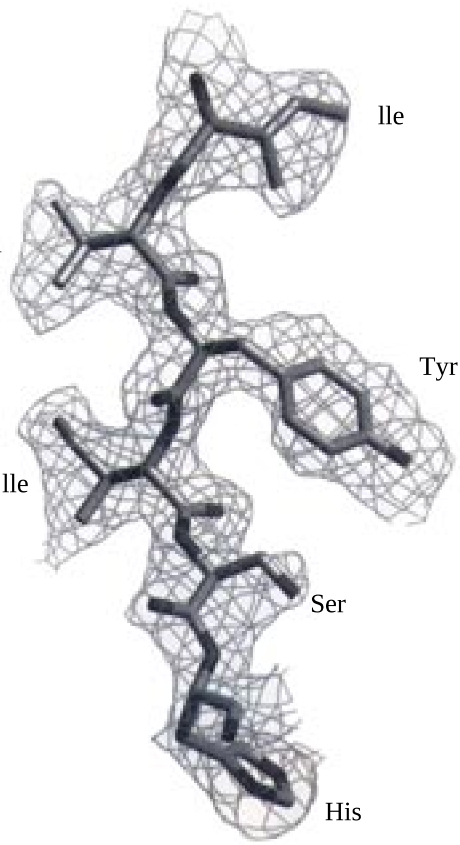
تسمح معرفة المدى والأطوار بوضع خريطة لكثافة الإلكترونات:

هناك ثلاثة معالم تميز كل حزمة منعرجة وهي المدى (Amplitude) والطول الموجي (Wavelength) والطور (Phase)، والأخير هو الوحيد الذي يكون مجهولاً. ويقوم حل مشكلة الطور عموماً على استبدال متشاكل متعدد (Multiple isomorphous replacement) بحيث يدخل معدن ثقيل أو لجين آخر مميز سلفاً إما بالتبلور المتزامن (Co-crystallization) أو بالانتشار في البلورة الموجودة تحلل بعد ذلك التغيرات في نموذج الانعراج لتحديد الأطوار بعمليات رياضية تشمل وضع خرائط باترسون (Patterson maps). وتستخدم الأطوار والمدى لحساب خريطة كثافة الإلكترونات للوحدة المتكررة من البلورة.

وتمثل خرائط كثافة الإلكترونات سلسلة من المقاطع المتوازية عبر البروتين تمثل فيها خطوط الكفاف (Contour lines) القريبة من بعضها بعضاً مناطق التغير الكبير في كثافة الإلكترونات. وتماثل خرائط كثافة الإلكترونات الخرائط الطبغرافية التي تمثل فيها خطوط الكفاف القريبة بعضها من بعضٍ مناطق يتغير فيها الارتفاع بشكل حاد. ولقد استخدمت مخزونات خرائط كثافة الإلكترونات المرسومة على مادة شفافة لتقليد خريطة كثافة الإلكترونات ثلاثية الأبعاد التي أنشئ منها اجتهاداً النموذج الفيزيائي للسلسلة الرئيسية من البروتين بشكل اجتهادي. ولكن التحليل البنيوي المعاصر يستخدم الحواسيب التي تعرض خرائط كثافة الإلكترونات بكفاف ثلاثي الأبعاد بحيث يمكن مطابقتها بالعين مع البنية الأولية المعروفة للبروتين (الشكل 6-12)

يتطلب بناء النموذج معرفة بالبنية الأولية:

تكون البلورات البروتينية النموذجية لينة نسبياً وبالتالي فهي مضطربة بمقدار بضعة أنجسترومات. ونتيجة لذلك لا تظهر خرائط كثافة الإلكترونات لمعظم البلورات البروتينية عموماً موضع الذرات بشكل واضح. وتظهر المعطيات عند دقة الميز 2 أنج الشكل الجزيئي الإجمالي، في حين تظهر المعطيات عند دقة الميز 1.5 أنج (الطول الموجي للرابطة التساهمية النموذجية) الذرات المنفردةِ بشكل جزئي. وتصبح الذرات غير الهيدروجينية مرئية بوضوح عند دقة الميز 1.1 أنج. وفي حين تظهر معظَم بُنى البلورات البروتينية في خرائط كثافة الإلكترونات بشكل ضعيف جداً لا يسمح بإظهار موضع كل من الذرات بوضوح تام، فإنَّه يمكن عادة تعقب مسار هيكل عديد الببتيد وكشف مواضع سلاسله الجانبية واتجاهاتها (الشكل 6-12). وفي واقع الأمر، لا يمكن استنتاج بنية البروتين من خريطة كثافة الإلكترونات فقط، ولتمييز الزمر"R" ذات الأحجام والأشكال المتماثلة يجب أن تتطابق البنية الأولية المعروفة بالعين مع خريطة كثافة الإلكترونات. ويُمكن بمساعدة الحاسوب أن تنقص أخطاء التحديد النهائي لمواضع الذرات إلى نحو 0.1 أنج.



شكل 6-12 : تمثيل لكيفية تطابق بنية أولية معروفة مع نموذج الكثافة الإلكترونية. وتلاحظ الكثافة الإلكترونية للطاق بيتا من النصف الانتهائي الأميني للـ RbsA، وهو الشريط الرابط للأتب (ATP) للناقلة ABC للريبوز من الإشريكية القولونية.

تحافظ معظم البروتينات البلورية على هيئتها الأصلية:

يبدو أن البروتينات البلورية تأخذ البنى نفسها التي تكون عليها في المحاليل، فنسبة الماء في البلورات البروتينية النموذجية (40-60 ٪) مماثلة لنسبته في الكثير من الخلايا. وبعيداً عن مناطق التماس بين الجزيئات المتجاورة في البلورة، تكون البروتينات البلورية مغموسة في مذيب التبلور، ويمكن بالتالي اعتبارها محلولاً. وتستطيع الإنزيمات عادة القيام بالتحفيز في حالة التبلور مما يوحي بأن البروتينات تتخذ البنى نفسها في المحلول كما هي في حالة التبلور. ولدينا دليلٌ داعمٌ آخر على ذلك يأتينا من طريقة تنظير الطيف المرناني الواردة أدناه.

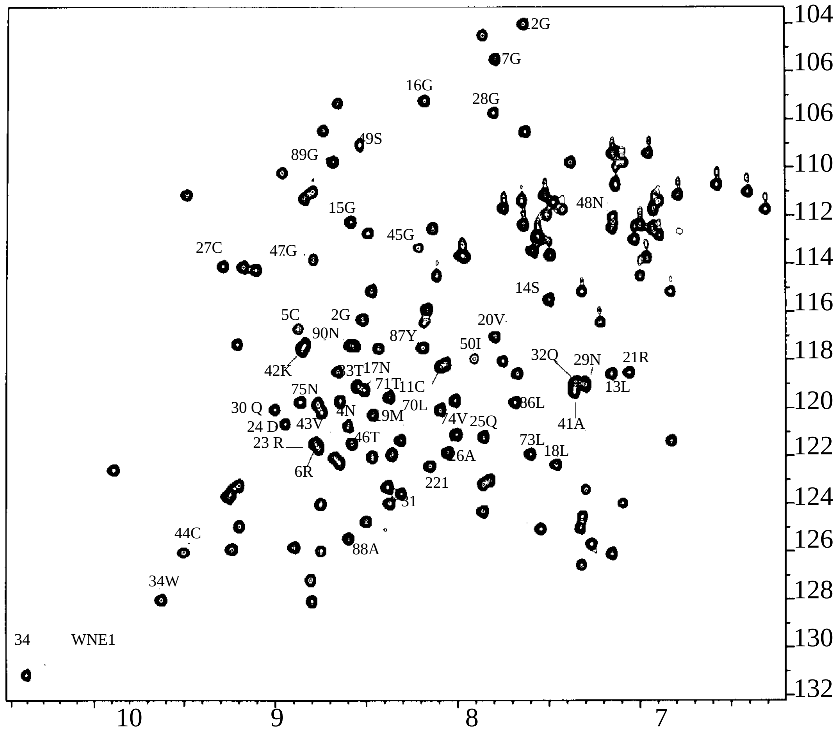
يعطي تنظير طيف الرنين المغناطيسي النووي بنية البروتينات في المحلول:

في حين يعطي تصوير البلورات بالأشعة السينية منظراً سكونياً لبروتين البلورات، يزودنا تنظير طيف الرنين المغناطيسي النووي (Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy) بمعلومات بنيوية عن البروتين في المحلول.

وتملك العديد من نوى الذرات الهامة بيولوجياً (^{1}H، ^{13}C، ^{15}N، ^{31}P) عزماً أو مجالاً مغناطيسياً؛ ويمكن استخدام الرنين المغناطيسي النووي لتقصي الوسط الكيميائي المحيط بهذه النوى وإعطاء معلومات عن المسافات بين الذرات في الجزيء. وعندما تدرس هذه المعلومات مع تسلسل البروتين وزوايا الروابط ومستوى الزمر وأقطار فان در ڤالس، يمكن أن تعطي مجموعة من البنى ثلاثية الأبعاد المترابطة والمقاربة لبنية 2.5 أنج المستخرجة بالأشعة السينية.

ولتحديد بنية البروتينات، يستخدم تنظير الطيف المرناني عادة المجال المغناطيسي لنواة الهيدروجين ^{1}H الغزيرة حيث تصطف ذرات الهيدروجين في البروتينات الموجودة في حقل مغناطيسي قوي بشكل متواز مع الحقل؛ ويمكن تغيير هذا التراصف إلى حالة مثارة بواسطة طاقة شعاعية ترددية ساقطة. وعندما تعود النوى إلى حالتها الأولية تُصدر إشعاعاً يعتمد تواتره الإشعاعي على البيئة المحيطة بها.

وتدعى هذه التـواترات الفـردية بالزيحـان الكيـمـيـائي (Chemical shift) وإذا استثنينا الهيدروجين في الأوساط المتماثلة (مثل كلتا ذرتي الهيدروجين في جزيء الميثيلين)، يكون من المحتمل نظرياً الحصول على زيحان كيميائي متميز لكل ذرة هيدروجين في البروتين. وبالنسبة إلى طيف الرنين المغناطيسي المعقد للبروتين، يجري تمييز الذرى كلا على حدة بتنظير الطيف المرناني ثنائي البعد (Two-dimensional NMR spectroscopy "2D-NMR") (الشكل 6-13).



شكل 6-13 : الرنين المغناطيسي النووي ثنائي البعد. ويوضح العلاقة بين النوى المتغايرة وحيدة الكم لبروتين مذاب بنسبة في الماء (90 ٪) / D2O (10٪) في درجة الحرارة 25 مئوية. تشير الذرى إلى العلاقات بين نوى هيدروجين الأميد ونيتروجينه؛ وتمثل الأرقام الصغيرة محددات القمم المنتقاة.

ونستطيع تحديد المسافات بين البروتونات التي تبعد عن بعضها بمقدار أقل من 5 أنج بواسطة 2D-NMR سواء من خلال الفراغ (تنظير الطيف النووي بتأثير أوفرهوسر (Overhauser) ([NOE]) أو من خلال الذرات المتصلة بشكل تساهمي (تنظير الطيف الترابطي أو COSY). وتتوافق البنى المستخلصة للبروتين نفسه بواسطة NMR والأشعة السينية مع اختلاف يقتصر بشكل رئيس على الثمالات السطحية. ويستخدم تنظير الطيف المرناني ثنائي البعد لدراسة حركات البروتينات مع الزمن (مثال: دراسة المتوسطات المتشكلة خلال تطوي البروتين).

أنظمة المعلوماتية والبرمجيات المتطورة تسهلان دراسة البنى البروتينية والتعامل معها:

تؤمن لنا نظم قواعد المعطيات الإلكترونية على شبكة الإنترنت ترتيباً كاملاً لجميع ذرات البروتينات التي جرى تحديد بنيتها عبر تصوير البلورات بالأشعة السينية. ويمكن أن يجري تحميل هذا الترتيب في برامج حاسوبية متطورة متوفرة للجميع حيث يمكن لأي فرد أن ينشئ النماذج ويتعامل معها بأن يدورها في كافة الاتجاهات وأن يضيف أو يحذف ما شاء من الثمالات أو الحقول أو اللجائن وأن يغير زوايا الربط...إلخ، ويلزمه للقيام بكل هذا حاسوبٌ شخصي بمعالج بنتيوم.

البنية الرابعية:

تتألف البروتينات ليلة المواحيد من عدد من السلاسل الببتيدية:

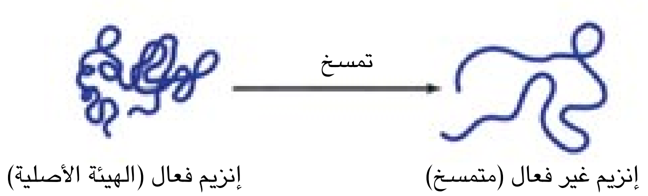
تبدي البروتينات المكونة من سلسلتين ببتيديتين أو أكثر والمترابطة بقوى غير تساهمية بنية رابعية (Quaternary structure). وتسمى السلاسل الببتيدية في هذه البروتينات بالمواحيد البروتينية (Protomers) أو الوحيدات (Subunits). وتعمل الروابط الهيدروجينية والروابط الكهربية الراكدة المتشكلة بين سطوح ثمالات الوحيدات المتجاورة على تثبيت ارتباط الوحيدات. وتدعى البروتينات التي تتألف من وحيدتين أو أربع وحيدات بالبروتينات ثنائية (Dimeric) أو رباعية القسيمات (Tetrameric)، على التوالي، فإذا كانت الوحيدات متماثلة أطلق على البروتين صفة

التجانس (البروتينات ثنائية القسيمات المتجانسة مثلاً (Homodimers))، أما قليلات المواحيد غير المتجانسة (Hetero-olygomers) فتتألف من وحيدات غير متماثلة. وتقوم الوحيدات المختلفة للبروتينات قليلة المواحيد غير المتجانسة بوظائف مختلفة، فقد تقوم وحيدة واحدة أو مجموعة من الوحيدات المتماثلة بوظيفة حفازية في حين تقوم وحيدة أخرى بوظيفة التّعرف على اللجين أو بدور تنظيمي. وتمنح التوجهات الفراغية (Spatial orientations) المختلفة للوحيدات خصائص متغيرة لقليل المواحيد مما يسمح للبروتينات عديدة المواحيد بلعب دور أساسي ومتميز في التنظيم داخل الخلوي.

تخرب الممسخات البنى الثانوية والثالثية والرابعية:

تقوم بعض الكواشف (Reagents) اليوريا وسلفات دوديسيل الصوديوم (SDS) وأيونات الهيدروجين أو الهيدروكسيل بتراكيز خفيفة) بتحطيم الروابط الهيدروجينية والكارهة للماء والكهربائية الراكدة (وليس الروابط الببتيدية أو ثنائية السلفيد)؛ فتُخَرِّب البُنى البروتينية ما عدا الأولية منها وتعطل الفعالية الحيوية (الشكل 6-14).

ومن المدهش أن إنزيمات أليفات الحرارة العالية (Extreme thermophiles) المستقرة تجاه الحرارة تماثل كثيراً البروتينات الموافقة لها في أليفات الحرارة المعتدلة (Mesophiles). وليس هناك أدوار عامة واضحة لاكتساب الاستقرار الحراري إلا من ناحية تسريع تعليب الثمالات الكارهة للماء وقصر العرى السطحية والوضع الصحيح للروابط الهيدروجينية وأزواج الأيونات ومواضع الحلزونات ألفا.



شكل 6-14 : تمثيل لتمسخ موحود بروتيني (Protomer).

تحدد الطرائق الفيزيائية الوزن الجزيئي والبنية الرابعية:

يتضمن تحديد البنية الرابعية للبروتينات قليلة المواحيد تحديد عدد المواحيد ونوعها وتوجهها والتآثرات فيما بينها. وإذا افترضنا أن قليل المواحيد لا يتمسخ خلال الطرائق المستخدمة لتحديد الأوزان الجزيئية، فإن هناك العديد من الطرائق التي تعطي معلومات حول الوزن الجزيئي، ويمكن استخدام هذه الطرائق لتحديد الوزن الجزيئي لوحيدة فقط إذا جرى تمسخ قليل المواحيد أولاً:

1 – التنبيذ الفائق التحليلي (Analytical ultracentrifugation): طور سفيدبرج هذه الطريقة التي تمكننا من قياس معدل ترسب البروتين في حقل جاذبية يبلغ نحو 10^5 × ج (وحدة تسارع (g) تعبر عن التسارع الناجم عن جاذبية الأرض على مستوى سطح البحر: 1 ج = 9.80665 متر/ثا/ثا). هذه التقنية ممتازة في مجال تحديد الوزن الجزيئي لكن طرائق أخرى أقل تعقيداً حلت مكانها في السنوات الأخيرة.

2 – التنبيذ في مدروج كثافة السكروز (Sucrose density gradient centrifugation): أفضل ما تطبق هذه الطريقة على البروتينات الكروية بحيث توضع البروتينات المعيارية (Standards) والمجاهيل بشكل طبقات على مدروج مدروء (Buffered) من السكروز 5-20 ٪ يحضر بالتجميد والصهر المتكرر للسكروز ذي التركيز 20 ٪. وبعد التنبيذ طوال الليل تؤخذ محتويات الأنبوب قطرة قطرة وتحلل بحثاً عن البروتين. ويجري حساب مدى حركية البروتين المجهول نسبةً إلى حركية البروتينات المعيارية ذات الأوزان الجزيئية المعروفة ثم تحديد وزنه الجزيئي.

3 – الترشيح الهلامي: تستخدم بروتينات معيارية ذات أوزان جزيئية معروفة لتعيير (Calibration) أعمدة (Columns) من السيفادكس أو أي مطارس (Matrices) أُخرى مشابهة تحوي مسامات (Pores) مجالات أبعادها معروفة؛ ثم تحسب الأوزان الجزيئية للبروتينات المجهولة من موضع شطفها (Elution) نسبة لتلك البروتينات المعيارية. وقد تحصل أخطاء كبيرة إذا كان البروتين غير متناظر أو يتآثر بقوة مع المادة التي صنع منها المنخل الجزيئي.

4 – الرحـلان الكهـربي على هلامـة عـديد الأكـريلامـيـد (PAGE): يجـري فـصل البـروتينات المجـهولة والمعـيارية بالرحـلان الكهربي على هلامـات من الأكـريلامـيـد المتصـالب (5-15 ٪) ذات مسـامات مـختلفـة الأبعاد يجـري تلوينهـا لاحقـاً لكشف البـروتين باسـتـعـمـال ملـون زرقـة كـومـازي أو أيونات الفـضـة. وتسـتـخـدم تقنيـة SDS-PAGE لتحديد حجم وحيدات البروتينات قليلة المواحيد. وللقيام بذلك يجري أولاً تمسيخ البروتين بغليه بوجود بيتا ـ مركبتو الإيثانول (β - mercaptoethanol) والمنظف (Detergent) الأيوني المشحون سلبيا SDS، فتصبح البروتينات المتمسخة مغلفة بمركب SDS (أي أن شحنتها كلها سلبية) مما يسمح بفصلها على الهلامات الحاوية على SDS اعتماداً على حجمها فقط (وليس على شحنتها).

5 – يظهـر المجـهـر الإلكـتـروني المركـبـات كـبـيـرة الجـزيئـات (Macromolecular complexes): يستطيع المجهر الإلكتروني التكبير حتى 100,000 مرة فيوضح لنا أجزاء الڤيروسات والمعقدات الإنزيمية والبروتينات قليلة المواحيد وقليلات المواحيد ذات الوزن الجزيئي المرتفع.

كيف يتطوى البروتين:

كيف يمكن لعديد الببتيد خلال فترة لا تتجاوز الثواني أن يتطوى (fold) إلى حالته الفيزيولوجية الأصلية؟ ليس من جواب شاف ودقيق حتى الآن على هذا السؤال الذي يبقى موضوعاً للتقصي الجاد. على العموم، هناك بعض المبادئ العامة الواضحة في هذا المجال.

في الحقيقة، لا يمكن أن يجري التطوي بأسلوب «البحث العشوائي» الذي يعني استكشاف كافة احتمالات تشكل الهيئة الفراغية إلى أن يصل البروتين إلى الحالة الأصلية؛ فتطوي عديد ببتيد صغير بهذا الأسلوب لا يحتاج إلى ثوان بل إلى وقت أطول من عمر الكون نفسه!! لذلك يفترض أن تكون عملية التطوي موجهة بشكل عالي الدقة عبر طرق ميسرة بشكل كبير.

مبادئ عامة:

اعتماداً على المعلومات المتوفرة حالياً، يبدو أن تطوي عديد الببتيد والبروتينات عديدة المواحيد يمر عبر المراحل التالية:

1 ـ تتشكل أولاً قطع قصيرة من البنية الثانوية (مناطق من الحلزون ألفا والصفائح بيتا واللفة بيتا... إلخ).

2 ـ يؤدي نمو هذه القطع القصيرة الموجه بالانتشار إلى تشكيل حقل في نهاية المطاف.

3 ـ في البروتينات عديدة الحقول، تتلاحم (Coalesce) الحقول المتطوية لتشكل ما يدعى «بالكرية المصهورة» "Molten globule" التي تحوي العديد من البُنى الثانوية، ولكن البنية الثالثية فيها قليلة الترتيب.

4 ـ تعمل التغييرات الهيكلية المتتالية على تغيير الكرية المصهورة إلى شكل مكتنز (Compact) ذي بنية ثالثية منتظمة. ثم تحدث تغيرات ضئيلة في الهيئة الفراغية تؤدي إلى تشكيل بنية عديد الببتيد النهائية الأصلية؛ وبذلك يكون التطوي قد اكتمل في البروتينات الموحودة.

5 ـ أما في البروتينات ذات البنية الرابعية، فتعمل عديدات الببتيد المنتظمة السابقة كوحيدات تجتمع مع بعضها بعضاً لتشكل عديدات المواحيد.

يمكن للبروتينات المتمسخة أن تعود إلى طبيعتها:

تعود العديد من البروتينات المتمسخة للتطوي تلقائياً في المختبر (in vitro) وتستعيد فاعليتها الحيوية أيضاً مما جعل أنفنسن (Anfinsen) يستنتج أن البنية الأولية لعديد الببتيد كانت وحدها كافية لتوجيه تطوي البروتين؛ لكن عودة التطوي التلقائي هذه تأخذ وقتاً طويلاً (ساعات) مما يبقي استنتاج أنفنسن صحيحاً لكنه يحتاج إلى تعديل ليفسر مشاركة بروتينات إضافية في تسريع عملية التطوي وتوجيهها ضمن مسالك نوعية. من هذه البروتينات الإضافية نذكر مصاوغة ثنائي

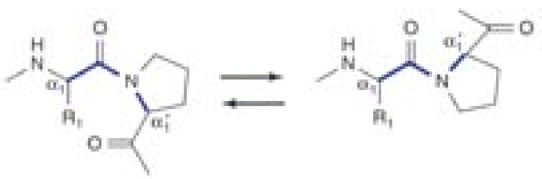
سلفيد البروتينات (Protein disulfide isomerase) ومصاوغة البروليل المقرون ـ المفروق (Prolyl cis-trans isomerase) والشابيرونينات (Chaperonins).

مُصاوغة ثنائي سلفيد البروتينات:

تعمل الروابط ثنائية السلفيد (-S-S-) (أو السيستين) المتشكلة ضمن عديدات الببتيد وفيما بينها على تثبيت البُنى الثانوية والثالثية. فإذا علمنا أن بإمكان ثمالة سيستينيل (Cysteinyl)معينة تشكيل العديد من أزواج الروابط ثنائية السلفيد، وأن واحداً منها فقط يكون مناسباً للتطوي الصحيح حيوياً، تبرز أهمية الإنزيم المسمى مصاوغة ثنائي سلفيد البروتينات الذي يعمل على تسهيل «تجريب الروابط» بتسريع عملية تبديل طرفي الروابط ثنائية السلفيد حتى الوصول إلى الرابطة المناسبة. بهذه الطريقة يقوم هذا الإنزيم بدور مسرع لعملية تطوي البروتين بكاملها.

مصاوغة البروليل المقرون ـ المفروق:

في حين تكون الروابط الببتيدية X-Pro لعديدات الببتيد المتشكلة حديثاً من النوع المفروق (*trans*)، فإن 10 ٪ منها يكون مقروناً (*cis*) في البروتينات الناضجة. يقوم إنزيم مصاوغة البروليل المقرون ـ المفروق بتحفيز هذه المصاوغة (Isomerization)، مسهلاً بذلك عملية التطوي (الشكل 6-15).



شكل 6-15 : مصاوغة الرابطة الببتيدية N– ألفا البروليل من التهايؤ المقرون إلى التهايؤ المفروق نسبة إلى هيكل عديد الببتيد.

الشابيرونات الجزيئية:

تكون الشابيرونات الجزيئية (Molecular chaperones) في الجراثيم والمتقدرات وصانعات الكلوروفيل كبيرة، وهي عبارة عن بروتينات عديدة المواحيد تسرع عملية تطوي البروتينات حيث تقدم بيئة محمية تستطيع عديدات الببتيد أن تتطوى فيها لتشكل هيئتها الفراغية وبناها الرابعية. وتضم الشابيرونات بروتينات صدمة الحرارة (Heat-shock proteins) التي تتكون من حلقتين من وحيدات متماثلة مصطفة حول فراغ مركزي يستطيع أن يتكيّف مع عديدات الببتيد الكبيرة. وتدعم الشابيرونات الآليات التي تُثبِّط التآثرات غير المُلائمة بين السطوح المتكاملة وتسهل حدوث التآثرات المُلائمة. لكن الآلية التي تعمل بها الشابيرونات ما تزال غير مفهومة تماماً.

تشمل الشابيرونات بروتينات صدمة الحرارة 60 (Hsp60) و 10 (Hsp10) التي تصنعها الجراثيم وصانعات الكلوروفيل كاستجابة للكرب الحراري لتعكس تمسخ البروتين وتكدسه النّاجمين عن ارتفاع درجة الحرارة. ومن هذه البروتينات نذكر البروتين GroES والبروتين GroEL في الإشريكيات القولونية (*E. coli*) والبروتين Cpn10 والبروتين Cpn60 في صانعات الكلوروفيل. تتكون هذه البروتينات من أربع عشرة وحيدة متماثلة وتشكل حلقات مزدوجة من سبع وحيدات تحيط بجوف مركزي واسع يمكنه التكيف مع عديدات الببتيد الكبيرة. تحمي هذه البنية الواقية الأجزاء الكارهة للماء من عديدات الببتيد المعرضة للمذيبات والمتطوية جزئياً أو المتمسخة وتعاكس ميلها للاتحاد فيما بينها وتكدسها في مجموعات غير ذوابة.

تنجم أدواء البريونات عن تغير البنية الثانوية والثالثية للبروتين:

البريونات (Prions) هي عبارة عن بروتينات عدوائية (معدية) (Infectious) لا تحتوي على حمض نووي. تحدث هذه البروتينات العديد من الاضطرابات العصبية التنكسية (Neurodegenerative) المميتة التي تدعى اعتلالات الدماغ الإسفنجية السارية (Transmissible spongiform encephalopathies "TSEs") أو أمراض البريونات. يمكن أن تتظاهر هذه الأمراض كاضطرابات وراثية أو عدوائية أو فردية؛

ويشـتمل كل اضطراب على تحـوير البنيـة الثـانوية والثـالثيـة لبروتين البـريون PrP. تشتمل أمراض المعديات على داء كرويتزفيلد ـ ياكوب (CJD) في البشـر والراعوش (Scrapie) في الغنم والتهاب الدماغ الإسفنجي البقري (BSE) في الماشية. ويتصف كل منهـا بتـغـيرات إسـفنجـيـة الشكل ودباق (Gliosis) الخـلايا النجـمـيـة وضـيـاع عصبوني تنجم عن توضع بروتينات غير ذوابة في الليفات النشوانية (Amyloid) المستقرة. وتحتوي الخيوط الأولية للُّيَيْفات النشوانية على أزواج من الصفائح بيتا الملتفة حلزونياً والمرتبطة بروابط هيدروجينية مستمرة على طول اللييف.

يرمز كل من البروتين المرتبطة بالبريون (Prp) بجين PrP في الثدييات. ويتوضع جين الشكل الفيزيولوجي للبروتين PrP البشري على الذراع القصير للصبغي 20. ويوجـد PrP بشكلين: PrPc و PrPSc. ويعـد PrPc (يدعى أيضـاًPrP-sen) حـسّـاسـاً للبروتيـز، في حين يكون الشكل البـاثولوجي PrPSc (يدعى أيضـاً PrP-res) مقـاومـاً لتـأثيرها. يترافق هذا الأخير بشكل مؤكد مع اعتلالات الدماغ الإسفنجية الشكل السارية أو أمراض البريونات. وتتماثل بنى الشكلين الأولية وكذلك مختلف أشكال التحوير ما بعد الترجمة التي يخضعان لها، لكن البُنى الثالثية والرابعية لهما مختلفتين. وفي حين يكون PrPc غنياً بالحلزون ألفا، يتكون PrPSc في معظمه من الصفائح بيتا. ويتضمن تحول PrPc إلى PrPSc تغير البنية الحلزونية ألفا إلى البنية الصفيحية بيتا؛ ويعتقد أن هذا التغير يتحرض بتآثر PrPc مع PrPSc في عملية يقوم بروتين آخر بالمساهمة فيها وتسهيلها. وهكذا يعملُ PrPSc كمرصاف (Template) يعاد تطوّي PrPc عليه إلى PrPSc وليد.

الشكل يملي الوظيفة:

لا يظهر الفحص الدقيق للبروتينات النموذجية بنيتها الفريدة التي تحدد وظائفها الحيوية النوعية فحسب، بل يظهر أيضاً العلاقةَ الوثيقة بين بنية البروتين ووظيفته الحيوية. ونجد في هذا السياق أن معظم البروتينات الليفية تقوم بأدوار هيكلية في الجلد والأنسجة الضامة أو الألياف مثل الشعر أو الحرير أو الصوف؛ فالتسلسل غير المألوف للأحماض الأمينية للبروتينات الليفية يملي بنى ثانوية وثالثية خاصة تكسبها خصائص ميكانيكية نوعية.

تثبت القوى الكارهة للماء الصفائح بيتا لفبروين الحرير:

يوضح البروتين الحشري المعروف بفبْروين الحرير (Silk fibroin) كيفية ثبات البنية الثانوية بقوى غير الروابط الهيدروجينية. يحتوي هذا البروتين من الأحماض الأمينية على ثمالات الجليسين (85 ٪) التي تتناوب مع ثمالات الألانين والسيرين. وتشكل السلاسل الببتيدية للفبروين مصفوفات (Arrays) ممتدة من صفائح بيتا متعاكسة التوازي تبرز من أحد سطوحها المجموعات "R" لثمالات الجليسين (الهيدروجين) وتبرز المجموعات "R" للألانين أو السيرين من السطح الآخر. وتوجد كميات صغيرة من ثمالات الفالين أو الثريونين ذات المجموعات R الكبيرة بشكل دوري يقطع مناطق الصفائح بيتا ويؤمن بعض المرونة للسلسلة الببتيدية. وتعمل قطع الفبروين الطويلة ـ المؤلفة من صفائح بيتا متعاكسة التوازي الممتدة تماماً والمتقاربة فيما بينها ـ على مقاومة التمدد، لكنها تحافظ على مرونتها نتيجة الخاصية غير الموجهة للقوى الكارهة للماء المثبِّتة لبنية البروتين.

البنية الثانوية للبروتينات الليفية:

تملك البنى الثانوية للبروتينات الليفية، بما فيها تلك التي تخص الجلد والأوتار والعظام والعضلات والتي تقوم بوظائف هيكلية أو واقية أو محركة، خصائص بنيوية تختلف تماماً عن تلك المظاهر الخاصة بالبروتينات الكروية. وسنناقش فيما يلي البنية الثانوية لأكثر بروتينات الثدييات غزارة، أي الكولاجين.

الكولاجين:

توضح الكولاجينات العلاقات المختلفة بين البنية والوظيفة:

تشرح الكولاجينات، والتي تمثل نحو 25 ٪ من كامل البروتينات الثديية، بوضوح العلاقات العديدة بين بنية البروتين ووظيفته التي تميز البروتينات الليفية للفقاريات. فكولاجين الأوتار يشكل بنية غير متناظرة لها قوة توترية (Tensile)عالية؛ ويشكل كولاجين الجلد أليافاً مرنة ذات نسيج رخو.

أما كولاجين المناطق القاسية للأسنان والعظام فيحوي هيدروكسي آباتيت (Hydroxyapatite) وهو عبارة عن بلمر فسفات الكلسيوم. وأخيراً، يكون كولاجين قرنية العين شفافاً ومنظماً بحيث يبدو كالبِلَّور تقريباً.

التروبوكولاجين هو جزيء حلزوني ثلاثي غني بالجليسين والبرولين وهيدروكسي البرولين:

يتألف التروبوكولاجين (Tropocollagen) من ثلاث سلاسل ببتيدية تحوي نحو 1000 ثمالة تقريباً. تشكل كل سلسلةٍ حلزوناً يسارياً (ليس من النوع ألفا) يحوي ثلاث ثمالات تقريباً في كل لفة. وتلتف ثلاثة حلزونات يسارية الاتجاه لتشكل حلزوناً ثلاثيا يمينياً (Right-handed triple helix) أو بنية مفرطة الالتفاف (Supercoil) يتثبت بالروابط الهيدروجينية المتشكلة بين السلاسل الببتيدية (وليس ضمنها كما في الحلزون ألفا) (الشكل 57-1). هذا الملف الحلزوني الثلاثي قوي جداً ويقاوم الانفكاك (Unwinding) لأنه قد التف هو وسلاسله في اتجاه معاكس، وهو المبدأ المطبق أيضاً في الكبلات الفولاذية للجسور المعلقة. وتقيس ألياف الكولاجين الناضجة عديمة التناظر 1.5 نم × 300 نم مما يعكس هيئته الممتدّة الثابتة.

كل ثالث ثمالة في الكولاجين هي ثمالة جليسين:

البنية الأولية للكولاجين الناضج هي $_n$(Gly-X-Pro/Hyp) ويتضح من هذه البنية أن كل ثالث ثمالة هي الجليسين، وهو الثمالة الوحيدة التي تكون فيها الزمرة "R" صغيرة لدرجة تسمح لها بالتوضع في اللب المركزي للحلزون الفائق الالتفاف (Superhelix) وتسبق كل ثمالة جليسين إما بثمالة برولين أو هيدروكسي البرولين. ويجبر التنافر المتبادل بين ثمالات البرولين عديد الببتيد ليأخذ الشكل الحلزوني يساري الاتجاه الممتد، كما تؤدي ثمالات البرولين وهيدروكسي البرولين غير المرنة إلى الصلابة.

يتميز نضج طلائع الكولاجين بحدوث العديد من التعديلات بعد الترجمة:

بخلاف الحلزون فائق الالتفاف للكولاجين الناضج، تملك النهايات الأمينية والكربوكسيلية لطليعة الكولاجين أحماضاً أمينية مماثلة لأي من البروتينات الكروية. وخلال نضج (Maturation) طليعة الكولاجين، تنزع الامتدادات (Extensions) النهائية الأمينية والكربوكسيلية بوساطة التحلل البروتيني (Proteolysis) الانتقائي. وتشمل التعديلات الأخرى بعد الترجمة كلاً من إضافة الهيدروكسيل (الهدركسلة (Hydroxylation)) والأكسدة وتكاثف الألدول والإرجاع والارتباط بالجليكوزيل (Glycosylation). وتتحفز هدركسلة ثمالات البروليل والليسيل بإنزيمي هيدروكسيلاز البروليل وهيدروكسيلاز الليسيل اللذين يحتاجان إلى حمض الأسكوربيك (Ascorbic acid) وتجري إضافة الجلوكوز إلى ثمالات هيدروكسي الليزيل بعد ذلك بإنزيمات ناقلات الجالاكتوزيل والجلوكوزيل.

تعمل الأربطة التساهمية المتصالبة على تثبيت ألياف الكولاجين:

تتحد سلاسل التروبوكولاجين لتشكل الليفات المكروية (Microfibrils) للكولاجين. ويجري تثبيتها في البداية بالروابط الهيدروجينية ما بين السلاسل، بعد ذلك تثبت بالروابط التساهمية المتشكلة ضمن وما بين الحلزونات. وتحتاج عملية الربط التصالبي التساهمي هذه لإنزيم أُكسيداز الليسيل الذي يتطلب وجود النحاس ويَقلب الزمر الأمينية اللالثمالات الليسيل وهيدروكسي الليسيل إلى مجموعات ألدهيدية. تتكاثف بعد ذلك هذه المجموعات الألدهيدية فيما بينها أو مع المجموعات الأمينية اللالثمالات الليسيل وهيدروكسي الليزيل مشكلة أسس شيف (Schiff Bases). وتشكل عمليات الإرجاع التالية الأربطة المتصالبة التساهمية التي تؤمن مقاومة توترية كبيرة.

قد تشمل الاضطرابات الغذائية والوراثية بنية ثانوية مختلة أو مضطربة:

لقد أثبتت الأهمية الطبية للبنية الثانوية التامة من خلال اضطرابات التّخليق الحيوي للتروبوكولاجين ونضجه. ففي حالات العوز الشديد للڤيتامين C، تتوقف فعالية إنزيمات هيدروكسيلاز البروليل والليسيل ولا يستطيع التروبوكولاجين أن يدخل في التفاعلات المشكلة للروابط المتصالبة التساهمية، وتكون النتيجة هي الإصابة بالبثع (Scurvy) يتميز هذا الاضطراب الوراثي سريرياً بنزوف في اللثة وتأخر شفاء الجروح وأخيرا الموت. وبشكل مشابه، يعكس داء منكيز (Menkes' disease)، الذي يتميز بشعر ملتو (Kinky hair) وتأخر في النمو، العوز الغذائي للنحاس الذي يحتاجه إنزيم أكسيداز الليسيل.

تتضمن الاضطرابات الوراثية في التخليق الحيوي للكولاجين عدة أشكال من تكون العظم الناقص (Osteogenesis imperfecta) التي تتميز سريرياً بعظام هشة. وقد تنشأ أشكال محددة وراثيا من هذا الداء عن عيوب في جينات مختلفة تساهم في التخليق الحيوي للكولاجين. وبالمثل، هناك أنماط متعددة من متلازمة إهلرز ـ دانلوس (Ehlers-Danlos syndrome) تتميز سريرياً بشذوذات في المفاصل المتحركة والجلد تعكس عيوباً في الجينات التي ترمز طليعة الكولاجين ألفا أو ببتيداز النهاية الأمينية لطليعة الكولاجين (Procollagen N-peptidase) أو هيدروكسيلاز الليسيل (الفصل 75).

الخلاصة:

تدرس الخصائص البنيوية للبروتينات على أربعة مستويات: الأولية والثانوية والثالثية والرابعية. والمستوى الأخير لا يوجد إلا في البروتينات قليلة المواحيد.

تعبر البنية الأولية عن تسلسل الأحماض الأمينية ومكان توضع أي من الروابط ثنائية السلفيد، وتكون مرمزة بالجينات. أما البنيتان الثانوية والثالثية فتتعلقان بهيئة

البروتين الفراغية التي تسمح بها الروابط الببتيدية، وتمليهما البنية الأولية. وتصف البنية الثانوية تطوي السلاسل الببتيدية إلى أشكال عديدة الروابط الهيدروجينية كالحلزون ألفا والصفيحة المتثنية بيتا. ويمكن أن يؤدي اجتماع هاتين البنيتين إلى بنى فوق ثانوية (مثل البنية بيتا ـ ألفا ـ بيتا). وتهتم دراسة البنية الثالثية بالعلاقات ما بين الحقول البنيوية الثانوية وما بين الثمالات البعيدة عن بعضها في البنية الأولية. وأما البنية الرابعية (وتوجد فقط في البروتينات المكونة من سلسلتين ببتيديتين أو أكثر (بروتينات قليلة المواحيد) فتصف نقاط التماس بين هذه السلاسل الببتيدية أو الوحيدات والعلاقات الأخرى القائمة فيما بينها.

وفي حين تقتصر البنية الأولية على الروابط التساهمية، فإن ما يثبت الرتب الأعلى هي القوى الأضعف التي تشمل الروابط الهيدروجينية العديدة والروابط الملحية (الكهربائية الساكنة) بين ثمالات السطوح واتحاد المجموعات R الكارهة للماء داخل البروتين. وتخرب الكواشف التي تكسر الروابط اللاتساهمية (مثل اليوريا و SDS) البنى الثانوية والثالثية والرابعية، الأمر الذي يترافق مع ضياع للفعالية الحيوية للبروتين (تمسخ). وتشمل الطرائق الفيزيائية المستخدمة لدراسة الرتب الأعلى من البنى البروتينية كلاً من تصوير البلورات بالأشعة السينية (للبنيتين الثانوية والثالثية) بالإضافة إلى التنبيذ الفائق والترشيح الهلامي والرحلان الكهربي على الهلامة (للبنية الرابعية).

وقد شرحت العلاقة الوثيقة بين بنية البروتين ووظيفته الحيوية من خلال دراسة فبروين الحرير والكولاجين (من البروتينات الليفية). ومن الأمراض الناجمة عن عيوب في نضج الكولاجين نذكر متلازمة إهلرز ـ دانلوس وداء عوز الڤيتامين C (البثع).

تؤدي البريونات ـ وهي جزيئات بروتينية تفتقر إلى الحمض النووي ـ إلى اعتلالات الدماغ الإسفنجية الشكل السارية المميتة كداء كروتيزفيلد ـ ياكوب وداء الراعوش واعتلال الدماغ الإسفنجي البقري. وتقوم أمراض البريونات على آلية باثولوجية جديدة تتضمن تَغيُّراً في البنية الثانوية والثالثية للبروتين الطبيعي PrPc.

ويحدث هذا التغير البنيوي عندما يتآثر PrPc مع شكله المرضي PrPSc الذي يعمل كمرصاف تتحول عليه البنية الحلزونية ألفا للبروتين PrPc إلى بنية صفيحية بيتا مميزة للبروتين PrPSc.

***References:**

Advances in Protein Chemistry. Academic Press, 1944 to date. [Annual publication].

Benner SA et al: Predicting the conformation of proteins from sequences: Progress and future progress. *Adv Enzyme Regul* 1994;34:269.

Bollag DM, Edelstein SJ: *Protein Methods*. Wiley-Liss, 1990.

Branden C, Tooze J: *Introduction to Protein Structure*. Garland, 1991.

Burley SK, Petsko GA: Weakly polar interactions in proteins. *Adv Protein Chem* 39;1989:125.

Copeland RA: Methods of protein analysis: A practical guide to laboratory protocols. Chapman & Hall, 1993.

Creighton TE: Protein Structure: A Practical Approach. Oxford, 1990.

Darby NJ, Creighton TE: Protein Structure. IRL Press, 1993.

Dunn MJ: Gel Electrophoresis of Proteins. Wright, 1986.

Georgopoulos C, Welch WJ: Role of major heat-shock proteins as molecular chaperones. *Ann Rev Cell Biol*, 1993;9:601.

Gierasch LM, King J: : Protein Folding. American Association for the advancement of Science, 1990.

Hames BD, Richwood D: Gel Electrophoresis of Proteins: A Practical Approach. IRL Press, 1990.

Hartl FU, Martin J, Neupert W: Protein folding in cell: The role of molecular chaperones Hsp70 and Hsp60. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 1992;21:293.

Hendrick JP, Hartl FU: Molecular chaperone functions of heat-shock proteins. *Annu Rev Biochem* 1993;62:349.

Landry SJ, Gierasch LM: Polypeptide interactions with molecular chaperones and their relationship to in vivo protein folding. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 1994;32:645.

Matthews CR: Pathways of protein folding. *Annu Rev Biochem* 1993;62:653.

Prockop DJ, Kivirikko Ki: Collagens: Molecular biology, diseases, and potentials for therapy. *Annu Rev Biochem* 1995;64:403.

Prusiner SB: Prion diseases and the BSE crisis. *Science* 1997;278:245.

Prusiner SB, Scott MR: Genetics of prions. *Annu Rev Genet* 1997;31:139.

Richardson JS, Richardson DC: Principles and patterns of protein conformation. In: Prediction of Protein Structure and the Principles of protein conformation. Fasman GD (editor). Plenum Press, 1989.

Rose GD, Gierasch LM, Smith JA: Turns in proteins and peptides. Adv *Protein Chem* 1985;37:1.

Schmid FX: Prolyl isomerase: Enzymatic catalysis of slow protein-folding reactions. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 1993;22:123.

Scholz JM, Baldwin RL: The mechanism of α-helix formation by peptides. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 1992;21:95.

Scopes RK: *Protein Purification: Principles and Practices.* Springer, 1993.

Segrest JP et al: The amphipathic α-helix: A multifunctional structural motif in plasma lipoproteins. *Adv Protein Chem* 45;1995;303.

Serpell LC, Sunde M, Blake CCF: The molecular bases of amyloidosis. *Cell*

Mol Life Sci 1997;53:871.

Stein RL: Mechanism of enzymatic and nonenzymatic prolyl *cis-trans* isomerization. *Adv Protein Chem* 1993;44:1.

Wagner G, Hyberts SG, Havel TE: NMR structure determination and solution: A critique and comparison with X-ray crystallography. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 1992;21:167.

Weber PC: Physical principles of protein crystallization. *Adv Protein Chem* 1991;41:1.

Weber T, Aguzzi A: The spectrum of transmissible spongiform encephalopathies. *Intervirology* 1997;40:198.

الفصل السابع

البروتينات: الميوجلوبين والهيموجلوبين

Proteins: Myoglobine and Hemoglobin

مقدمة:

نناقش في هذا الفصل خصائص الميوجلوبين (Myoglobin) والهيموجلوبين (Hemoglobin)، وهما من بروتينات الهيم (Heme proteins) التي تحتوي على الحديد ولهما دور هام في فيزيولوجيا الفقاريات. وتظهر مقارنة خصائص الميوجلوبين والهيموجلوبين العلاقة بين البنية الأولية والثانوية أو الثالثية للبروتينات عموماً وتأثير تآثر الوحيدات (Subunits) كمحددات لخصائص البروتينات التفارغية (Allosteric) وتضمن هذا الفصل أيضاً أمثلة على الأدواء الوراثية التي تنجم عن طفرات نقطية (Point mutations) في الدنا (DNA) وتؤدي إلى حدوث استبدالات (Substitutions) في أحد الأحماض الأمينية أو عن طفرات انزياح الإطار (Frame-shift) التي تسبب خللاً في تخليق وحيدة هيموجلوبين كاملة.

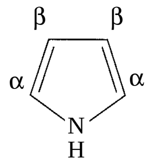
الأهمية الحيوية البيولوجية:

تقوم بروتينات الهيم بوظائف تتعلق بربط الأكسجين ونقله و نقل الإلكترونات والاصطناع الضوئي؛ وتشرح الدراسة المفصلة للهيموجلوبين والميوجلوبين بعض العناصر البنيوية الموجودة في أغلب البروتينات الكروية. وتكمن الأهمية الطبية الكبرى في أن هذه المعلومات تشرح لنا بوضوح العلاقة بين بنية البروتين ووظيفته، وتبصرنا بالأساس الجزيئي للأمراض الوراثية كداء الخلية المنجلية (ينجم عن تغير

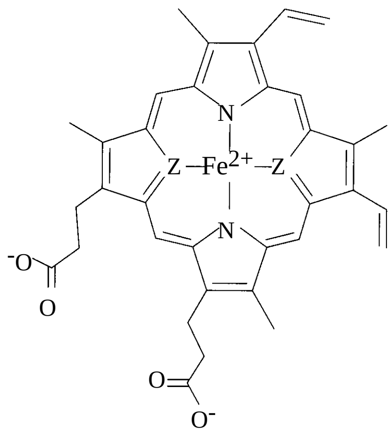
الصفات السطحية للوحيدة بيتا من الهيموجلوبين) وأمراض الثلاسيمية (Thalassemias) أدواء انحلال الدم العائلية المزمنة الناجمة عن تخليق معيب للهيموجلوبين). ومن ناحية أخرى يملك السيانيد (Cyanide) وأول أكسيد الكربون (CO) القدرة على القتل لأنهما يؤديان إلى اضطراب الوظيفة الفيزيولوجية للبروتينات الهيمية، فالأول يعطل عمل أكسيداز السيتوكروم (Cytochrome oxidase) والثاني يعطل عمل الهيموجلوبين. وأخيراً يعتبر ثبات البنية الرابعيّة للديوكسي هيموجلوبين بتأثير 2، 3 – ثنائي فسفو الجليسرات (Bisphosphoglycerate "BPG") أساسياً لفهم آلية مرض المرتفعات الشاهقة (High altitude sickness) والتلاؤمِ مع المناطق المرتفعة.

يوفر الهيم وأيون الحديدي قابلية تخزين الأكسجين ونقله:

يحتوي كل من الهيموجلوبين والميوجلوبين على الهيم كمجموعة ضميمة (Prosthetic group) ويحوي الهيم بنية حلقية رباعية البيرول (Cyclic tetrapyrol) التي تضم العديد من الروابط المزدوجة المقترنة (Conjugated) مما يسمح لها بامتصاص الضوء في النهاية الدنيا لطيف الأشعة المرئية فتتلون بالأحمر الغامق. وتتألف رباعيات البيرول من أربعة جزيئات من البيرول (الشكل 7-1) مرتبطة في مستو واحد بوساطة أربعة جسور ميثيلينية ـ ألفا. وتحدد المتبادلات بيتا ما إذا كان رباعي البيرول هو الهيم أم مركباً مشابهاً. تتألف هذه المتبادلات في الهيم من مجموعات الميثيل (M) والڤينيل (V) والبروبيونات (Pr) مرتبة بالترتيب التالي: M - M - V - M - V - M - Pr - Pr (الشكل 7–2)؛ وتتوضع ذرة واحدة من الحديد الثنائي (Fe^{2+}) في مركز الحلقة المستوية. وتشتمل البروتينات الأخرى ذات الزمر الضميمة رباعية البيرول (وأيوناتها المعدنية المرافقة) على السيتوكرومات (Fe^{2+} و $Fe3+$) وإنزيمات الكاتالاز وبيرولاز التربتوفان والكلوروفيل (Mg^{2+}). وتعتبر أكسدة ذرة الحديد واختزالها مراحل أساسية لقيام السيتوكرومات بوظيفتها الحيوية. وعلى العكس، تؤدي أكسدة حديدي الميوجلوبين أو الهيموجلوبين إلى توقف فعاليتهما الحيوية.



الشكل 7-1 : البيرول (Pyrrole) ترتبط الكربونات ألفا بجذور الميثيلين في رباعي البيرول؛ وتحمل الكربونات بيتا الاستبدالات لرباعي البيرول النوعي، مثل الهيم.



الشكل 7-2 : الهيم. تقع حلقات البيرول وكربونات جذور الميثيلين كلها في نفس المستوي، وتتوضع ذرة الحديد تقريباً على المستوى نفسه؛ أما الموضعين التساهميين الخامس والسادس لذرة الحديد Fe^{2+} فموجهين بشكل عمودي على مستوى حلقة الهيم، فوقه وتحته مباشرة. لاحظ طبيعة التبادلات على الكربونات بيتا لحلقات البيرول وذرة الحديد المركزية وتوضع الجانب القطبي لحلقة الهيم (نحو الساعة السابعة)، والتي تواجه سطح جزيء الميوجلوبين.

الميوجلوبين يخزن الأكسجين:

يقوم الميوجلوبين في الأنسجة العضلية الحمراء بتخزين الأكسجين ليحرره لاحقاً في حالات نقص الأكسجين (كما في حالة التمارين الشاقة) وتستخدمه متقدرات العضلات في عملية تصنيع الأتب (ATP) المعتمدة على الأكسجين.

تتوضع الثمالات القطبية ما عدا اثنتين على سطح الميوجلوبين:

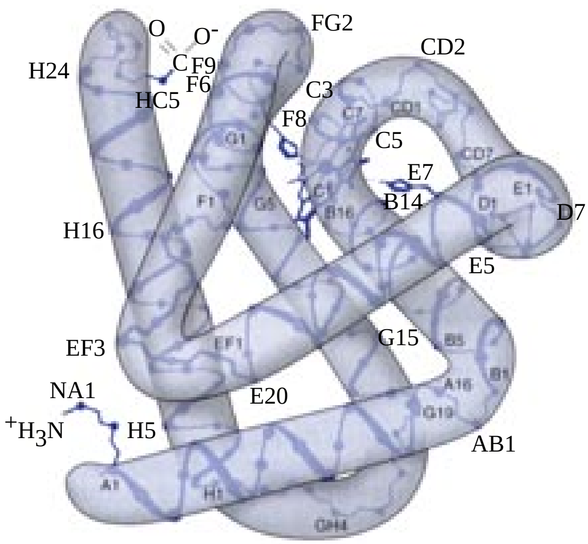
يتكون الميوجلوبين من سلسلة ببتيدية واحدة ذات وزن جزيئي قدره 17,000 تحتوي على 153 ثمالة حمضية أمينية تتوزع فراغياً بشكل تتوضع فيه الثمالات القطبية على سطح الجزيء والثمالات غير القطبية في لبه، وهذا ما يميز البروتينات الكروية. أما الثمالات التي تحوي مناطقَ قطبية وأخرى غير قطبية معاً (مثل Thrو Trp و Tyr) فتتوجه مناطقها غير القطبية نحو الداخل. وفيما عدا ثمالتي الهيستيدين اللتين تساهمان في ارتباط الأكسجين، فإن لب الميوجلوبين يحوي ثمالات غير قطبية فقط (اللوسين، الفالين، الفينيل ألانين، الميثيونين).

الميوجلوبين غني بالحلزون ألفا:

الميوجلوبين هو جزيء مكتنز كروي تقريباً يقيس 4.5 × 3.5 × 2.5 نم (الشكل 7-3). ومع ذلك، فإن هيئته الفراغية ليست نموذجية. ولتسهيل الرجوع إلى بعض المناطق من البنى الثانوية والثالثية لعديد الببتيد، ترقم كل من البنى الحلزونية ألفا والصفيحية بيتا والعرى أو يشار إليها بأحرف بدءاً من نهايته الأمينية. يوجد حوالي 75 ٪ من الثمالات في ثمانية حلزونات ألفا يمينية الاتجاه تتراوح أطوالها بين 7 و 20 ثمالة. وبدءاً من النهاية الأمينية، تدعى هذه الحلزونات بالحلزون A وحتى الحلزون H. وتميز المناطق ما بين الحلزونات بأحرف تشير إلى المنطقتين الحلزونيتين المرتبطتين بها. ويرمز لثمالة ما بحرف يشير إلى الحلزون الذي تتوضع فيه ورقم يشير إلى بعده عن النهاية الأمينية لهذا الحلزون؛ فمثلاً، يشير الرمز "His F8" إلى الهيستيدين، الثمالة الثامنة في الحلزون F.

ولا بد من الإشارة هنا إلى أن الثمالات المتباعدة في البنية الأولية (في حلزونات مختلفة مثلاً) قد تكون فراغياً متقاربة جداً ومثال ذلك ثمالتي His F8 (الدانية "Proximal") و His E7 (القاصية "Distal") (ا لشكل 3-7).

تشبه البنية الثانوية والثالثية للميوجلوبين في المحاليل إلى حد بعيد بنية الميوجلوبين البلوري، ولهما طيفا امتصاص متماثلان تقريباً. ويربط الميوجلوبين البلوري الأكسجين، وتكون كمية الحلزون ألفا في المحلول (والمقدرة بالتبعثر الدوراني الضوئي (Optical rotatory dispersion) وازدواج اللون الدائري (Circular dichroism) متقاربة كثيراً مع ما يظهره التحليل بتصوير البلورات بالأشعة السينية (X-ray crystallography).



الشكل 3-7 : نموذج للميوجلوبين بميز منخفض، لا يظهر فيه سوى ذرات الكربون ألفا. وأطلق على المناطق الحلزونية ألفا التسميات من A وحتى H.

توجه البنية الأولية لصميم الميوجلوبين التطوي الصحيح للبروتين بوجود الهيم:

يتناقص محتوى صميم الميوجلوبين (الميوجلوبين منزوع الحديد) من الحلزونات ألفا بشكل كبير عند خَفض باهاء (pH) المحلول إلى 3.5، وتختفي هذه البنى تماماً بإضافة اليوريا للمحلول؛ وعند إزالة اليوريا فيما بعد بواسطة الديال وإضافة الهيم، يعود المحتوى الحلزوني، كما تحافظ إضافة الحديدي على الفعالية الحيوية (الرابطة للأكسجين) كاملة. هذا يعني أن المعلومات البنيوية الأولية المتضمنة في صميم الميوجلوبين تستطيع ـ بوجود الهيم ـ أن توجه تطوي البروتين إلى بنيته الهيكلية الأصلية والفعالة حيوياً. وكما ذكرنا في (الفصل 6)، يمتد هذا المفهوم ليشمل البروتينات الأخرى: البنية الأولية للبروتين توجه إنشاء البنية الثانوية والثالثية.

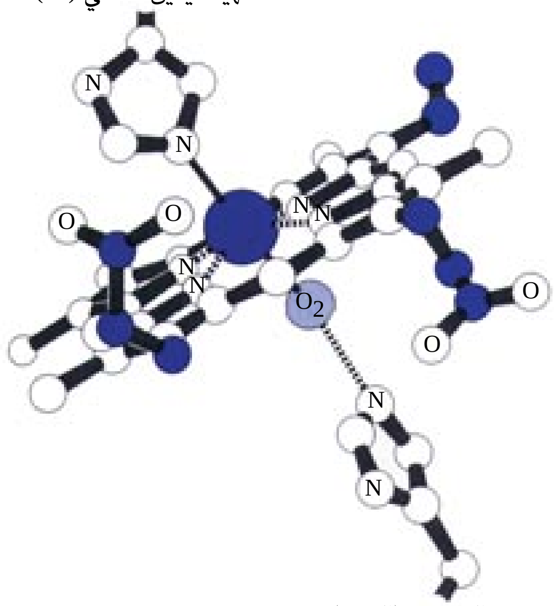
تقوم الهيستيدينات F8 و E7 بوظائف فريدة في ارتباط الأكسجين:

يوجه هيم الميوجلوبين المتوضع ضمن فجوة بين الحلزونين E و F (الشكل 7-3) مجموعاته البروبيونية القطبية إلى السطح، أما الباقي فيتوجه إلى داخل جزيء الميوجلوبين حيث تكون كل الثمالات المحيطة غير قطبية باستثناء His F8 و His E7. ويرتبط الموضع التشاركي (Coordination) الخامس للحديدي بالنتروجين الحلقي للهيستيدين الداني (His F8) (الشكل7-4). وفي حين لا يرتبط الهيستيدين القاصي (His E7) بموضع التشارك السادس للحديدي، فإنه يتوضّع على جانب حلقة الهيم المقابل للثمالة His F8 (الشكل 7-4).

عند ارتباطه بالأكسجين، يتحرك الحديد باتجاه مستوى الهيم:

يتوضع حديد الهيم في الميوجلوبين غير المؤكسج خارج مستوى الحلقة باتجاه الهيستيدين F8 وعلى بعد 0.03 نم (0.3 أنجستروم) عنها؛ أما في الميوجلوبين المؤكسج فإن جزيء الأكسجين يشغل الموضع التشاركي السادس لذرة الحديدي،

مما يجعله يبعد نحو 0.01 نم (0.1 أنج) فقط خارج مستوى الهيم. هذا يعني أن أكسجة الميوجلوبين تترافق مع تحرك ذرة الحديد باتجاه مستوى الحلقة ساحباً معه ثمالة His F8 والثمالات الأخرى المرتبطة تساهميا معها. هذه الحركة تؤدي إلى إحداث هيئة فراغية جديدة لأجزاء البروتين.

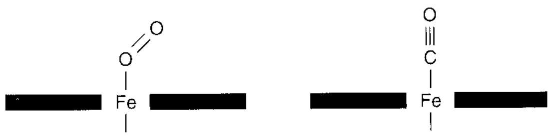


الشكل 7-4 : إضافة الأكسجين إلى حديد الهيم بعملية الأكسجة. وتبدو أيضاً سلاسل الإيميدازول الجانبية لثمالتين هامتين من الجلوبين (الهيستيدين F8 و E7) ترتبطان بحديد الهيم.

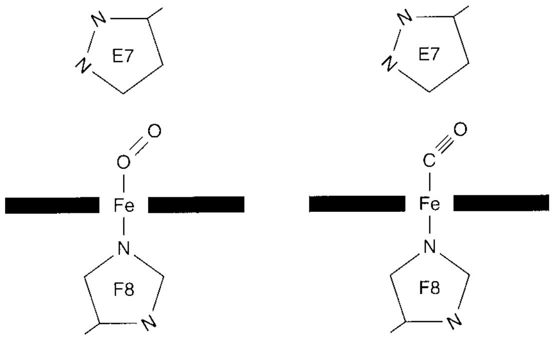
صميم الميوجلوبين يؤمن بيئة تحمي حديد الهيم:

عند ارتباط جزيء الأكسجين بالميوجلوبين تكون الرابطة بين الذرة الأولى للأوكسجين والحديد (Fe^{2+}) متعامدة مع مستوي حلقة الهيم، أما الأكسجين التالي فيرتبط بزاوية 121 درجة مئوية مع مستوي الهيم ويتوجه بعيداً عن الهيستيدين القاصي (الشكل 7-5).

يرتبط أول أكسيد الكربون (CO) مع الهيم الحر بشكل أقوى بنحو 25,000 مرة مما يفعل بالأكسجين. ويحتوي الجو المحيط على آثار من CO، كما ينجم عن التقويض الطبيعي للهيم نفسه كميات صغيرة من CO؛ فلماذا إذاً لا يشغل CO (وليس O_2) موضع التشارك السادس من حديد هيم الميوجلوبين؟ يكمن السبب في الإعاقة التي يقوم بها صميم الميوجلوبين حول الهيم، فالتوجه المفضل لارتباط CO بحديد الهيم هو أن تكون الرابطة بين الذرات الثلاث (Fe، C، O) عمودية على حلقة الهيم (الشكل 7-5). وفي حين يكون هذا التوجه ممكناً بالنسبة إلى الهيم الحر، يعمل الهيستيدين القاصي في الميوجلوبين على الإعاقة الفراغية لارتباط CO بهذه الزاوية (الشكل 7-6)، وهذا ما يجبر على أن يرتبط CO بشكل فراغي أقل استقراراً ويخفف من قوة الارتباط بين الهيم و CO بأكثر من الضعفين (إلى حوالي 200 مرة من قوة الارتباط بين الهيم و O_2). وعلى العموم، يوجد جزء صغير من الميوجلوبين الطبيعي (نحو 1 ٪) بشكل أول أكسيد كربون الميوجلوبين.



الشكل 7-5 : الزوايا المفضلة لارتباط الأكسجين وأول أكسيد الكربون إلى ذرة حديد الهيم (الخط الغامق).



الشكل 7-6 : زوايا ارتباط الأكسجين وأول أكسيد الكربون إلى حديد هيم الميوجلوبين. يعيق الهيستيدين البعيد E7 ارتباط CO بزاويته المفضَّلة 180 (م) نسبة إلى مستوى حلقة الهيم.

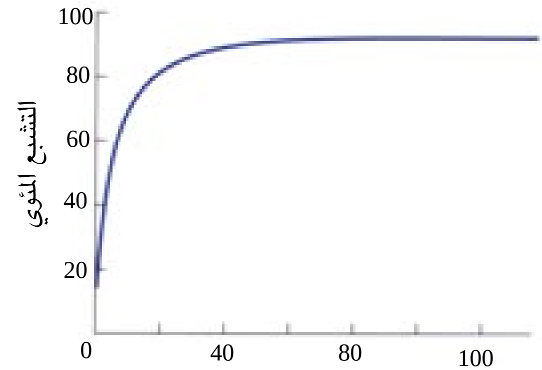
تلائم منحنيات تفارق الأكسجين للميوجلوبين والهيموجلوبين الأدوار الفيزيولوجية المَنوطة بها:

لماذا يكون الميوجلوبين فعالاً في تخزين الأكسجين ولكنه غير قادر على نقله؟ إن كمية الأكسجين المرتبطة بالميوجلوبين (والمعبر عنها بالتشبع المئوي Percent saturation) تعتمد على تركيز الأكسجين (المعبر عنه بالضغط الجزئي للأكسجين (PO_2" Partial pressure")) في البيئة المحيطة مباشرة بحديد الهيم. وقد يعبر عن العلاقة بين PO_2 وكمية الأكسجين المرتبطة بالحديد بيانياً بمنحنى تشبع الأكسجين (منحني تفارق الأكسجين (Oxygen dissociation). وبالنسبة إلى الميوجلوبين يكون شكل منحنى خط التساوي الحراري لامتزاز الأكسجين زائدي المقطع (Hyperbolic) (الشكل 7-7).

وبما أن PO_2 في السرير الشعري الرئوي يبلغ 100 مم زئبق، فإن الميوجلوبين سيحمل بالأكسجين في الرئة. ومع ذلك، فإن PO_2 في الدم الوريدي يبلغ 40 مم زئبق، وفي العضلات الحركية نحو 20 مم زئبق. وبما أن الميوجلوبين لا يستطيع أن يسلم جزءاً كبيراً من الأكسجين المرتبط به ولا حتى عند مستوى 20 مم زئبق، لذلك فإنه لا يستطع أن يكون وسيلة فعالة لنقل الأكسجين من الرئتين إلى الأنسجة المحيطية. ورغم ذلك، فإن نقص الأكسجين الذي يترافق مع التمارين الفيزيائية الشاقة يمكن أن يصل بقيمة PO_2 الأنسجة العضلية إلى مستوى يبلغ نحو 5 مم زئبق. وعند هذا المستوى، يحرر الميوجلوبين الأكسجين المرتبط به لتستخدمه المتقدرات العضلية في تصنيع الأتب (ATP).

يقوم الهيموجلوبين بنقل O_2 و CO_2 والبروتونات:

يقوم هيموجلوبين الكريات الحمراء في الفقاريات بوظيفتي نقل كبيرتين: (1) نقل O_2 من الأعضاء التنفسية إلى الأنسجة المحيطية؛ (2) نقل CO_2 والبروتونات من الأنسجة المحيطية إلى الأعضاء التنفسية للتّخلص منهما. وفي حين تقدم لنا الكيمياء الحيوية المقارنة لهيموجلوبين الفقاريات بعض المفاهيم المدهشة، فإننا سنتكلم هنا فقط عن الهيموجلوبين البشري.



الشكل 7-7 : منحني ربط الأكسجين للميوجلوبين . قارن بين التشبع المئوي والضغط الجزئي في الرئة (100 مم زئبق) والنسج (20 مم زئبق) والعضلات العاملة (5 مم زئبق) .

البنى الرابعية للهيموجلوبينات تعطيها الخصائص التفارغية:

تنجم الصفات المميزة لكل من الهيموجلوبينات عن بناها الرابعية بالإضافة إلى البنى الثانوية والثالثية. وتمنح البنية الرابعية للهيموجلوبين خصائص مميزة جداً (لا توجد في الميوجلوبين) تجعلها ملائمة تماماً لدورها الحيوي الفريد وتسمح بالتنظيم الدقيق لصفاتها. كما تقدم الخصائص التفارغية «الألوستيرية» (Allosteric) (باليونانية تعني «غير» وتعني «فراغ») للهيموجلوين نموذجاً لفهم البروتينات التفارغية الأخرى.

بخلاف الميوجلوبين، يملك الهيموجلوبين بنية رابعية:

الهيموجلوبينات بروتينات رباعية القسيمات مكونة من زوجين مختلفين من السلاسل عديدة الببتيد (تدعى a و β و γ و δ و S.. إلخ). وفي حين تتشابه في

الطول الكلي، فإن عديدات الببتيد ألفا (141 ثمالة) وبيتا (146 ثمالة) للهيموجلوبين A (HbA) ترمز بجينات مختلفة ويكون لها بنى أولية مختلفة. وبالمقابل، فالبنية الأولية لسلاسل β و γ و δ للهيموجلوبينات البشرية لها بنى أولية متقاربة جداً. وتكون البُنى رباعية القُسيمات للهيموجلوبينات الشائعة كما يلي: HbA (هيموجلوبين البالغ الطبيعي) = $\alpha_2\beta_2$ و HbF (الهيموجلوبين الجنيني) = $\alpha_2\gamma_2$ و HbS (هيموجلوبين الخلية المنجلية) = α_2S_2 و HbA_2 (النموذج الثاني لهيموجلوبين البالغين) = $\alpha_2\delta_2$.

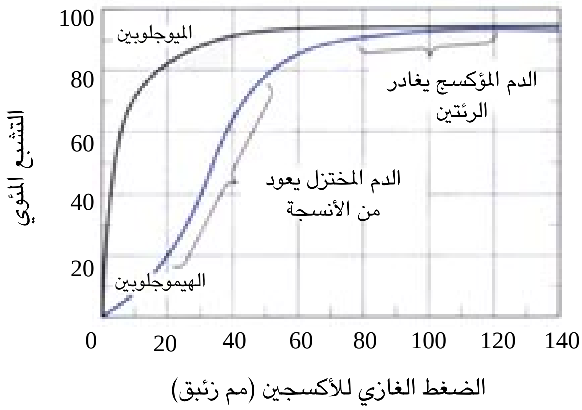
للميوجلوبين ووحيدات الهيموجلوبين بيتا بُنى ثانوية وثالثية متماثلة تقريباً:

رغم الاختلاف في نمط وعدد الأحماض الأمينية الموجودة في كل من الميوجلوبين وعديد الببتيد بيتا للهيموجلوبين A (HbA)، فإنهما يبديان بنى ثانوية وثالثية متماثلة تقريباً. وهذا التشابه، الذي يشمل موضع الهيم والمناطق الحلزونية الثمانية، ينجم جزئياً عن وجود أحماض أمينية ذات خواص متشابهة في المواضع نفسها من بناهما الأولية. ويتشابه عديد الببتيد بيتا بشدة مع الميوجلوبين رغم وجود سبع مناطق حلزونية وليس ثمانية. وكما في الميوجلوبين، تكون الثمالات الكارهة للماء داخلية أما الثمالات المحبة للماء (فيما عدا ثمالتي الهيستيدين في كل وحيدة) فتتوضع على السطح في كل من الوحيدتين ألفا وبيتا للهيموجلوبين A.

تترافق أكسجة الهيموجلوبين مع تغيرات في هيئة صميم البروتين الفراغية:

يربط كل جزيء من الهيموجلوبين (رباعي القسيمات) أربعة جزيئات من الأكسجين (جزيء واحد مع كل وحيدة هيم)، ويكون منحني تشبع الأكسجين بشكل الحرف S (Sigmoid) (الشكل 7-8). وتعتمد سهولة ارتباط الأكسجين إلى الهيموجلوبين على ما إذا كانت جزيئات الأكسجين الأخرى مرتبطة مع الرباعي

نفسه، فارتباط أحد جزيئات الأكسجين يسمح بارتباط الأكسجين التالي بشكل أسرع؛ وهكذا يبدي الهيموجلوبين حرائك ارتباط متناسقة (Cooperative binding kinetics)، وهي صفة تسمح له أن يربط كمية أعظمية من الأكسجين في الأعضاء التنفسية، ويحرر كمية أعظمية من الأكسجين في PO_2 الأنسجة المحيطية. وكمثال على ذلك قارن هذه الكميات عند PO_2 الرئة البشرية (100 مم زئبق) والأنسجة (20 مم زئبق) مع الميوجلوبين (الشكل 7-8).



الشكل 7-8 : منحنيات ربط الأكسجين لكل من الهيموجلوبين والميوجلوبين. يكون ضغطُ الأكسجين الشرياني نحو 100 مم زئبق أما ضغطه في الدم الوريدي الممزوج فيكون نحو 40 مم زئبق، وضغطه في الأوعية الشعرية (العضلات الناشطة) نحو 30 مم زئبق؛ أما ضغط الأكسجين الأصغري المطلوب لعمل السيتوكرومات فهو نحو 5 مم زئبق. ويؤدي ارتباط السلاسل في بنية رابعية (الهيموجلوبين) إلى التخلي عن كمية أكبر من الأكسجين مما لو كانت السلاسل مفردة.

يعبر PO_2 عن الألفة النسبية لمختلف الهيموجلوبينات تجاه الأكسجين:

PO_2 هو الضغط الجزئي للأكسجين الذي يشبع الهيموجلوبين بنسبة 50٪. تتغير قيمة PO_2 بشكل كبير بين كائن حي وآخر، لكنها في جميع الأحوال تتجاوز قيمة

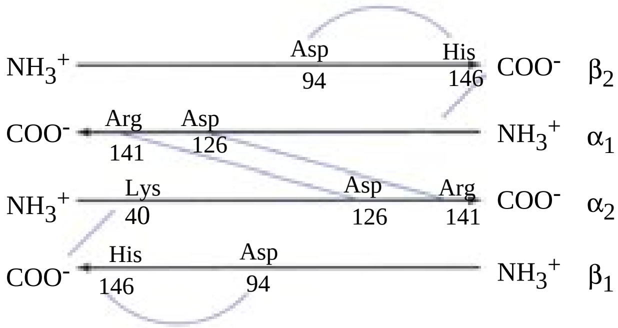
PO_2 الأنسجة المحيطية لهذا الكائن الحي. ويعطينا الهيموجلوبين الجنيني HbF البشري مثالاً واضحاً على ذلك. فبالنسبة إلى HbA قيمة $PO_2 = 26$ مم زئبق، أما في HbF فقيمتها 20 مم زئبق مما يسمح للهيموجلوبين الجنيني باستخلاص الأكسجين من HbA الدم المشيمي. بعد الولادة، يصبح الهيموجلوبين الجنيني غير ملائم لأن ألفته العالية للأكسجين تسمح له بتحرير كمية قليلة فقط من أكسجينه للنسج.

وفي البداية لا يقوم الجنين البشري باصطناع السلاسل ألفا وبيتا، بل السلاسل زيتا ζ وإبسيلون ε فقط. وفي نهاية الأثلوث (Trimester) الأول من الحمل، تحل السلاسل ألفا بدلاً من السلاسل ζ والسلاسل γ بدلاً من السلاسل ε. وهكذا يكون للهيموجلوبين F (هيموجلوبين الحياة الجنينية المتأخرة) البنية $\alpha_2\gamma_2$؛ أما السلاسل بيتا، والتي يبدأ إنشاؤها في الأثلوث الأخير من الحمل، فإنها لا تحل محل السلاسل γ إلا بعد عدة أسابيع من الولادة.

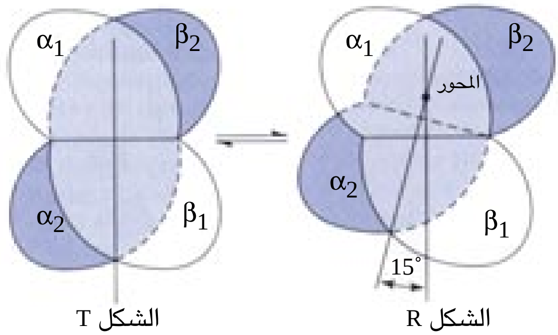
تترافق أكسجة الهيموجلوبين بتغيرات كبيرة في هيئته الفراغية:

يترافق ارتباط الأكسجين بالهيموجلوبين مع تمزق الروابط الملحية بين النهايات الكربوكسيلية لوحيداته الأربعة (الشكل 7-9) مما يسهل ارتباط الأكسجين التالي لأنه يتطلب تمزيق عدد أقل من الروابط الملحية. تغير هذه التبدلات البنى الثانوية والثالثية والرابعية بشكل ملحوظ حيث يدور أحد أزواج الوحيدات ألفا / بيتا بالنسبة إلى الزوج ألفا/ بيتا الآخر، فيزداد اكتناز رباعي القسيمات وتزداد ألفة جزيئات الهيم للأكسجين (الشكلان 7-10 و 7-11).

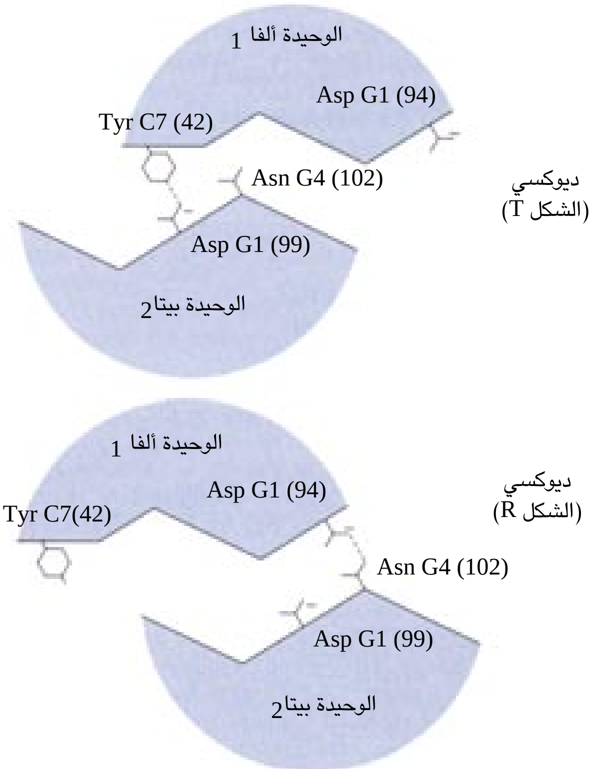
توصف البنية الرباعية للهيموجلوبين المؤكسج جزئياً بالحالة المشدودة (Taut) "T" وللهيموجلوبين المؤكسج (HbO_2) بالحالة المسترخية (Relaxed "R") (الشكل 7-12). كما يستخدم هذا الوصف لتمييز البُنى الرابعية للإنزيمات التفارغية، حيث تكون الألفة تجاه للركيزة أخفض في الحالة T.



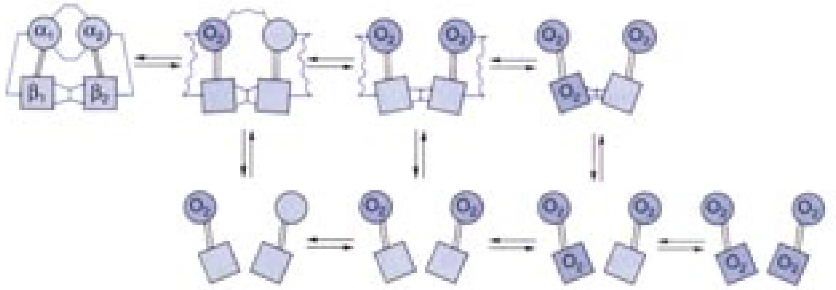
الشكل 7-9 : الروابط الملحية بين الوحيدات وضمنها في الديوكسي هيموجلوبين، وتضطرب هذه التآثرات غير التساهمية أو الكهربية الساكنة عند الأكسجة.



الشكل 7-10 : خلال تحول الشكل T للهيموجلوبين إلى الشكل R، يدور أحد أزواج الوحيدات الثابتة (ألفا2 / بيتا2) نحو 51° نسبة إلى الزوج الثابت الآخر (ألفا1 / بيتا1). ولا يكون محور الدوران مركزياً، وينزاح الزوج (ألفا2 / بيتا2) باتجاه المحور. وفي المخطط، لم يظلل الزوج (ألفا1 / بيتا1)، وتُرك ثابتاً، وأما الزوج (ألفا2/ بيتا2) فيدور وينزاح.



الشكل 7-11 : التغيرات الطارئة على تماس ألفا$_1$ مع بيتا$_2$ خلال الأكسجة. «ينزلق» التماس من منطقة معشقة إلى أخرى متضمناً الانتقال من رابطة هيدروجينية إلى أخرى. وتكون الروابط الأخرى لاقطبية.



الشكل 7-12 : يصبح الانتقال من البنية T إلى البنية R أكثر احتمالاً عندما تتأكسج كل من مجموعات الهيم من الهيموجلوبين الرباعي. وفي هذا النموذج، تتكسر الروابط الملحية (الخطوط الدقيقة) التي تربط الوحيدات في البنية T مع إضافة الأكسجين، وحتى تلك الروابط الملحية التي لم تختل (الخطوط المتموجة) تصبح ضعيفة أيضاً؛ ولا يحصل الانتقال من T إلى R بعد ارتباط عدد معين من جزيئات الأكسجين، ولكن يصبح أكثر احتمالاً مع كل ارتباط للأكسجين، ويتأثر الانتقال بين البنيتين بعدة عوامل بما فيها البروتونات وثاني أكسيد الكربون والكلوريد و BPG. وكلما كان تركيزها أعلى وجب أن يرتبط الأكسجين بنسبة أكبر حتى يحرض الانتقال. ولا يظهر الشكل جزيئات مؤكسجة كلياً في البنية T أو جزيئات غير مؤكسجة كلياً في البنية R، لأن كليهما غير مستقر بحيث لا يمكن وجوده بأعداد ملحوظة.

تترافق أكسجة الهيموجلوبين بتغيرات في الهيئة الفراغية بالقرب من مجموعة الهيم:

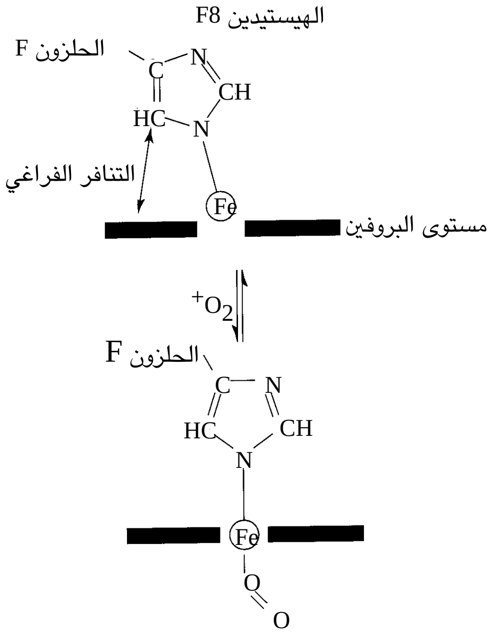
عند أكسجة الديوكسي هيموجلوبين تتحرك ذرات الحديد (المتوضعة خلف مستوى حلقة الهيم بنحو 0.06 نم) باتجاه مستوى حلقة الهيم (الشكل 7-13). تنتقل هذه الحركة إلى الهيستيدين القريب (F8) الذي يتحرك باتجاه مستوى الحلقة أيضاً ساحباً معه الثمالات الأخرى المرتبطة به.

ينقل الهيموجلوبين كلاً من CO_2 والبروتونات إلى الرئتين بعد تحرير الأكسجين في الأنسجة:

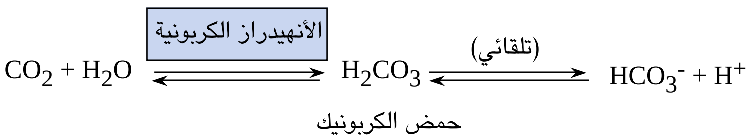
بالإضافة إلى نقله للأكسجين من الرئتين إلى الأنسجة المحيطية، يسهل الهيموجلوبين نقل CO_2 من الأنسجة إلى الرئتين حيث يتم الزفير. ويستطيع الهيموجلوبين ربط CO_2 مباشرة عند تحريره للأكسجين؛ ويشار هنا إلى أن ما يقارب من 15 ٪ من CO_2 الدم يكون محمولاً على جزيئات الهيموجلوبين. يتفاعل CO_2 مع الزمر الأمينية ـ ألفا لثمالات النهايات الأمينية للهيموجلوبين مشكلاً الكربامات (Carbamate) ومحرراً البروتونات التي تساهم في أثر بور (Bohr effect).

$$CO_2 + HB - NH_3^+ \rightleftharpoons 2H^+ + HB - N- C\text{-}O\text{-}H\text{-}O^-$$

ويؤدي انقلاب النهايات الأمينية من الشحنة الإيجابية إلى السلبية إلى السماح بتشكيل جسر ملحي بين السلاسل ألفا وبيتا، وهو الوضع المميز لحالة الديوكسي. وتترافق أنسجة الهيموجلوبين في الرئتين مع طرد CO_2 وزفره لاحقاً. وعند وجود CO_2 في الدم، تقوم الأنهيدراز الكربونية في الكريات الحمراء بتحفيز تشكل حمض الكربونيك (الشكل 7-14) الذي يتفارق مباشرة إلى بيكربونات وبروتون؛ ولتجنب زيادة حموضة الدم، يجب توفر جملة دارئة تمتص هذه البروتونات الزائدة. ويساهم الهيموجلوبين بشكل ملحوظ في السعة الدارئة للدم حيث يقوم بربط بروتونين مقابل كل أربعة جزيئات أوكسجين متحررة (الشكل 7-15). وتكون العملية معكوسة في الرئتين، أي أنّ ارتباط الأكسجين بالهيموجلوبين غير المؤكسج يحرر البروتونات وتنضم إليها البيكربونات لتشكل حمض الكربونيك الذي يشكل CO_2 (بمساعدة الأنهيدراز الكربونية) الذي يجري التخلص منه بالزفير. وهكذا، فإن ارتباط الأوكسجين يؤدي إلى زفر CO_2، وتدعى هذه الظاهرة العكوسة بأثر بور (Boher effect) الذي يترافق مع انزياح منحني الأكسجة إلى اليمين (أي أن الهيموجلوبين يكون أقل تشبعاً عند ضغط جزيئي معلوم للأكسجين). ويعد أثر بور صفة خاصّة بالهيموجلوبين الرباعي ويعتمد على التآثرات الهيمية ـ الهيمية أو التأثيرات التعاونية (Cooperative).وبناء عليه، لا يبدي الميوجلوبين أثر بور Bohr.



الشكل 7-13 : تتحرك ذرة الحديد نحو مستوى الهيم عند الأكسجة؛ ويجري سحب الهيستيدين F8 والثمالات المرتبطة به مع ذرة الحديد.



الشكل 7-14 : تشكل حمض الكربونيك الذي تحفزه الأنهيدراز الكربونية للكريات الحمراء، وتفارق حمض الكربونيك إلى أيون البيكربونات وبروتون.

تنشأ البروتونات المسؤولة عن أثر بور عن تقطع الروابط الملحية خلال ارتباط الأكسجين:

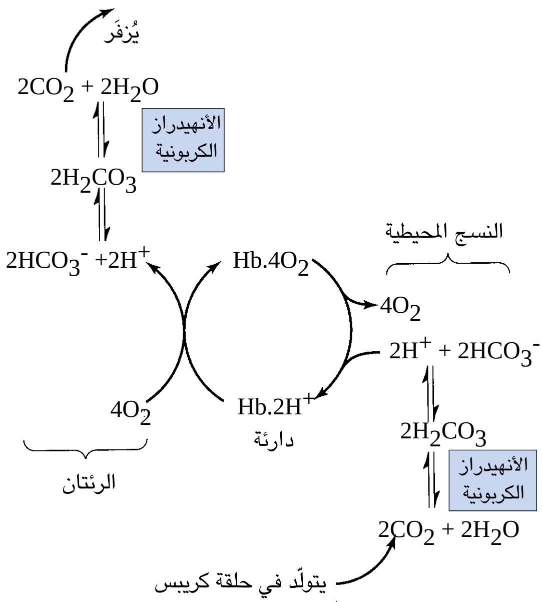
تنجم البروتونات المسؤولة عن أثر بور من تمزيق الروابط الملحية خلال ارتباط الأكسجين بالحالة T للهيموجلوبين. وتؤدي البروتونات المتحررة من ذرات النتروجين للثمالة HC3 (الهيستيدين 146) من السلاسل بيتا إلى توجيه البيكربونات نحو تشكيل حمض الكربونيك الذي يتحرر بشكل CO_2 في الدم السنخي (Alveolar) (الشكل 7-15). وعند تحرر الأكسجين، تعود البنية T وروابطها الملحية للتشكل وترتبط البروتونات إلى الثمالات HC3. وهكذا تتيح البروتونات الفرصة لتشكيل الروابط الملحية بارتباطها مع ثمالة الهيستيدين في النهاية الأمينية للسلاسل بيتا. وتسهل عودة تشكل الروابط الملحية تحرر الأوكسجين من الهيموجلوبين المؤكسج (الشكل "R") وعلى العموم، تعزز زيادة تركيز البروتونات من إمكانية تحرر الأكسجين أما زيادة PO_2 فتعزز من إمكانية تحرر البروتونات. ويتمثل الأول بانزياح منحني تفارق الأكسجين نحو اليمين.

يقوم 2، 3 ـ ثنائي فسفوجليسرات (BPG) بتثبيت البنية T للهيموجلوبين:

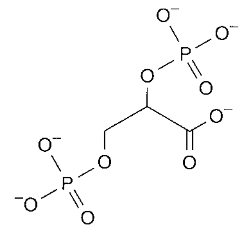
يتسبب نقص الأكسجين في الأنسجة المحيطية بحدوث تراكم في 2، 3 ـ ثنائي فسفوجليسرات (الشكل 7-16). يتشكل هذا المركب من 1، 3 ـ ثنائي فسفوجليسرات (أحد متوسطات تحلل السكر)، وترتبط جزيئة واحدة منه مع كل جزيء هيموجلوبين في الفجوة المركزية التي تشكلها الوحيدات الأربع. تناسب هذه الفجوة حجم جزيء الـ BPG فقط عندما يكون الفراغ بين الحلزونات H في السلاسل بيتا واسعاً بشكل كاف، أي عندما يكون الهيموجلوبين بالحالة T. ويرتبط BPG بالسلاسل بيتا بواسطة جسور ملحية بين ذراته الأكسجينية والمجموعات الأمينية لكل من الثمالة الانتهائية الأمينية (Val NA1) والليسين EF6 والهيستيدين H21 (الشكل 7-17). وهكذا يعمل BPG على تثبيت الشكل T أو الشكل غير المؤكسج من الهيموجلوبين بربطه التصالبي للسلاسل بيتا وتشكيله جسوراً ملحية إضافية يجب تمزيقها قبل تشكل الحالة "R" للهيموجلوبين.

يرتبط BPG مع الهيموجلوبين الجنيني بشكل أضعف بكثير من ارتباطه مع هيموجلوبين البالغ، ويعود ذلك لأن الثمالة H21 من السلسلة γ في الهيموجلوبين الجنيني هي السيرين وليست الهيستيدين ولا تستطيع أن تشكل جسراً ملحياً مع BPG. هذا يعني أن أثر BPG في تثبيت الشكل T من الهيموجلوبين الجنيني قليل مما يجعل ألفتهُ للأكسجين أكبر من ألفة HbA.

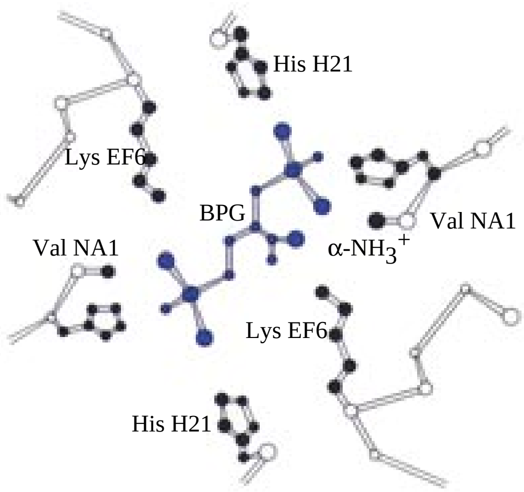
إن إعطاء إشارة البدء لتحول الهيموجلوبين بين الشكل T و R هو حركة الحديد داخل وخارج مستوى حلقة البرفيرين، وتتوسطه كل من العوامل الفراغية والكهربائية الساكنة. وهكذا فإن تغيراً محدوداً في وضع Fe^{2+} بالنسبة إلى حلقة البُرفيرين يحرض بشكل ملحوظ حدوثَ تغيرات في الهيئة الفراغية للهيموجلوبين فتتأثر وظيفته الحيوية استجابة للإشارة المحيطية.



الشكل 7-15 : أثر (فعل) بور. يتحد ثاني أكسيد الكربون المتولد في الأنسجة المحيطية مع الماء ليشكل جزيئات حمض الكربونيك التي تتفارق إلى بروتونات وأيونات البيكربونات؛ ويعمل الهيموجلوبين منزوع الأكسجين كدارئة بربطه للبروتونات وتسليمها إلى الرئتين. وفي الرئتين، يعمل ربط الأكسجين بالهيموجلوبين على تحرير البروتونات التي تتحد مع شاردة البيكربونات لتشكل حمض الكربونيك الذي يُنزع ماؤه بوساطة الأنهيدراز الكربونية ثم يزفر ثاني أكسيد الكربون الناتج عن طريق الرئتين.



الشكل 7-16 : بنية 2 ، 3 – ثنائي فسفوجليسرات.



الشكل 7-17 : نموذج لارتباط 2 ، 3 ثنائي فسفوجليسرات إلى الديوكسي هيموجلوبين البشري. يتآثر BPG مع ثلاث زمر مشحونة إيجابياً على كل سلسلة بيتا.

التكيف مع المرتفعات الشاهقة:

تشتمل التغيرات الفيزيولوجية المترافقة مع التعرض المديد للمرتفعات العالية على زيادة كل من عدد الكريات الحمراء وتركيز الهيموجلوبين وتركيز BPG. وتؤدي زيادة تركيز BPG إلى إنقاص ألفة الهيموجلوبين للأكسجين (نقص PO_2) مما يتسبب بزيادة قدرة الهيموجلوبين على تحرير الأكسجين على مستوى الأنسجة.

تم الكشف عن المئات من الهيموجلوبينات البشرية الطافرة (Mutant):

تستطيع الطفرات (Mutations) في الجينات المرمزة للسلاسل ألفا أو بيتا أن تؤثر في الوظيفة الحيوية للهيموجلوبين.ومن بين عدة مئات من الهيموجلوبينات البشرية الطافرة (ومعظمها نادر وسليم)، فإن القليل منها يؤثر في الوظيفة الحيوية. ونسمي الحالة التي تتغير فيها الوظيفة الحيوية للهيموجلوبين نتيجة الطفرة بالاعتلال الهيموجلوبيني (Hemoglobinopathy). ويتوفر بيان بضروب الهيموجلوبين البشري واختلافاته من خلال شبكة الإنترنت في الموقع ذي العنوان (http://globin.cse.psu.edu). وسنناقش فيما يلي بعض الأمثلة المختارة.

يحل التيروزين مكان الهيستيدين F8 في الهيموجلوبين M (HbM):

يتثبت حديد الهيم في الحالة Fe^{3+} لأنه يشكل مركباً أيونياً ثابتاً مع أنيون الفينولات في التيروزين. وفي حالة وجود الميتهيموجلوبين في الدم (Methemoglobinemia) يكون حديد الهيم ثلاثياً (Ferric) وليس ثنائياً (Ferrous). وقد يكون وجود Fe^{3+} مُكتسباً (نتيجة أكسدة Fe2+ إلى Fe^{3+} بعوامل كالسلفوناميدات مثلاً) أو وراثياً (ناجماً عن وجود HbM) أو كنتيجة لنقص فعالية مختزلة الميتهيموجلوبين (Methemoglobin reductase)، وهو الإنزيم الذي يرجع Fe^{3+} للميتهيموجلوبين إلى Fe^{2+}. وبما أن الميتهيموجلوبين لا يستطيع ربط الأكسجين فهو لن يتمكن من المشاركة في نقل الأكسجين. ويميل التوازن بين

الشكلين T و R لأنواع الهيموجلوبين M من السلسلة ألفا باتجاه تشكيل الحالة T فتتناقص ألفته للأكسجين ويغيب أثر بور، أما أنواع الهيموجلوبين M من السلسلة بيتا فتبدي القدرة عل التحول بين R و T فيبقى أثر بور.

تبدي الطفرات (مثل هيموجلوبين شيسابيك Chesapeake) التي تميل للوجود في الحالة R ألفة عالية للأكسجين، ولذلك تعجز عن تسليم كمية كافية من الأكسجين إلى الأنسجة المحيطة مسببة نقصاً في أنسجة الأنسجة الذي يؤدي بدوره إلى كثرة الحمر (Polycythemia) (زيادة عدد الكريات الحمراء).

يحل الفالين مكان الجلوتامات في الهيموجلوبين S:

يحل الفالين محل الجلوتامات β (6)A2 في الهيموجلوبين S (أي مكان الثمالة 6 للسلسلة بيتا). تتوضع هذه الثمالة على سطح الهيموجلوبين المعرض للماء؛ ويتسبب هذا الاستبدال بتبديل ثمالة قطبية (Glu) بواحدة غير قطبية (Val) مما يؤدي إلى تشكل «لطخة دبقة» (Sticky patch) على سطح السلسلة بيتا. توجد هذه اللطخة على سطح الهيموجلوبين S بشكليه المؤكسج وغير المؤكسج ولكن ليس على الهيموجلوبين A. كما يوجد على سطح الهيموجلوبين غير المؤكسج منطقة متممة للّطخة الدبقة تقنع في الهيموجلوبين المؤكسج (الشكل 7-18).

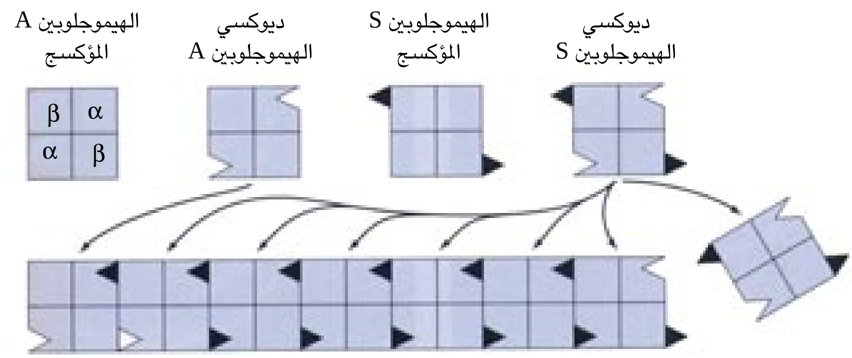
يشكل الديوكسي هيموجلوبين S أليافاً تشوه الكريات الحمراء:

عندما يجري نزع أكسجين الهيموجلوبين S تصبح اللطخة الدبقة قادرة على الارتباط باللطخة المتممة لها على سطح جزيء آخر من الـ HbS منزوع الأكسجين مما يتسبب ببلمرة (Polymerization) جزيئات الديوكسي هيموجلوبين S مشكلاً رواسب ليفية طويلة. تمتد هذه الرواسب داخل الكريات الحمراء ويشوهها ميكانيكياً مسبباً انحلالها ومختلف النتائج السريرية الثانوية الأخرى. وهكذا فإذا كان من الممكن الحفاظ على HbS مؤكسجاً أو إنقاص تركيز النمط غير المؤكسج منه، لن تتشكل هذه البلمرات (Polymers) وبالتالي يمنع حصول «التمنجل» (Sickling).

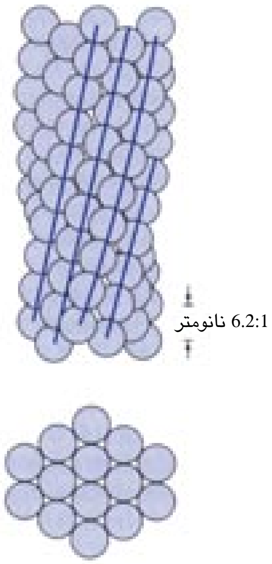
وبما أن الشكل T من HbS هو الذي يتبلمر، فمن الطبيعي أن الضغط المنخفض للأكسجين سيفاقم الحالة ويزيد من تمنجل الكريات الحمراء.

ورغم أن الديوكسي هيموجلوبين A يحوي المواقع المستقبلة (المتممة) للطخات الدبقة الموجودة في HbS المؤكسج وغير المؤكسج (الشكل 7-18)، فلن يتشكل البلمر من ارتباط الهيموجلوبين Sالدبق مع الديوكسي هيموجلوبين A لأن الأخير لا يحوي لطخة دبقة تحضض ارتباطه مع جزيئة هيموجلوبين أخرى. وهكذا فإن ارتباط الديوكسي هيموجلوبين A إلى أي من الشكلين T أو R للهيموجلوبين S سوف ينهي عملية البلمرة.

يشكل البلمر ليفاً حلزونياً ملتفاً يحوي مقطعه العرضي 14 جزيئاً من الهيموجلوبين S (الشكل 7-19). هذه الألياف الأنبوبية تشوه الكريات الحمراء فتصبح بشكل المنجل (الشكل 7-20) وتكون معرضة للانحلال عند نفوذها خلال أشباه الجيوب الطحالية.



الشكل 7-18 : تمثيل اللطخة الدبقة ▲ على الهيموجلوبين S و«مستقبلها» Δ على ديوكسي هيموجلوبين A وديوكسي الهيموجلوبين S. تسمح السطوح المتتامة للديوكسي هيموجلوبين S بالتبلمر بشكل بنية ليفية،لكن وجود ديوكسي الهيموجلوبين A ينهي البلمرة لأنه لا يملك لطخات دبقة على سطحه.



الشكل 7-19 : تمثيل البنية الحلزونية الملتفة لليف من ديوكسي الهيموجلوبين المتكدس. وفي هذا النموذج، تمثل الدوائر جزيئات الهيموجلوبين المنجلي S.

التطبيقات الطبية البيولوجية:

(1) بيلة الميوجلوبين (Myoglobinuria): عند التعرض لأذية صادمة قوية يتحرر الميوجلوبين من ألياف العضلات الممزقة ليظهر في البول ملوناً إياه باللون الأحمر الداكن. ورغم أنه يمكن كشف الميوجلوبين في البلازما بعد احتشاء العضلة القلبية، إلا أن قياس إنزيمات المصل (انظر الفصل 8) يقدم دليلاً أكثر حساسية على الأذية القلبية.

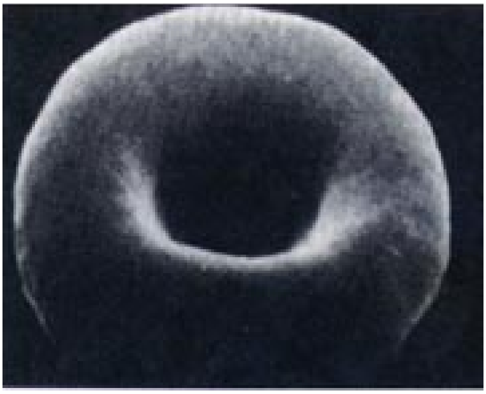
(2) فاقات الدم (Anemias) : تنجم فاقات الدم الشائعة (نقص عدد كريات الدم الحمراء أو تركيز هيموجلوبين الدم) عن خلل في تخليق الهيموجلوبين (كما في عوز الحديد: الفصل 59) أو في إنتاج الكريات الحمراء (كما في عوز حمض الفوليك أو الڤيتامين B_{12}: الفصل 52). ويبدأ تشخيص فقر الدم بقياس مستويات هيموجلوبين الدم. وقد نوقشت الثلاسيمية واستعمال مسابير (Probes) الدنا (DNA) لتشخيصها في (الفصلين 8 و 42).

(3) – اعـتـلالات الهـيـمـوجلوبين (Hemoglobinopathies): في حين تؤدي بعض الطفرات فـي ثمالات محدّدة من الـهيموجلوبين (مـثل الهيستـيدين E7 أو F8) إلى نتائج سيئة، هناك طفرات في العديد من الثمالات السطحية البعيدة عن موقع ارتباط الهيم لا تؤدي إلى أية شذوذات سريرية. وهناك استثناء واحد ملحوظ هو فقر دم الخلية المنجلية الذي تنجم جميع علاماته وأعراضه (كنوب التمنجل والخثرات) ناجمة عن طفرة تحول ثمالة قطبية واحدة على السطح إلى ثمالة غير قطبية. ويتصف فقر الدم المنجلي بحدوث ألم ناكس وموت مبكر، ويظهر بشكل مستقل في عدة مواقع من العالم حيث تكون الملاريا منتشرة، ويتوزع حالياً على نطاق واسع ضمن العديد من المناطق وبين العديد من المجموعات العرقية. وبالرغم من الاستقصاء الواسع الكيميائي الحيوي والبيولوجي الجزيئي الذي أجري لفقر الدم المنجلي، ما زالت الأبحاث الخاصة برعاية المريض محدودة. وتم تطبيق زرع الخلايا الجذعيّة (Stem cell transplantation) بنجاح على عدد قليل من المرضى. كما ساعدت تطبيق بعض الأدوية والسيتوكينات (Cytokines) ونقل الدم (Transfusion) والدّيال (Dialysis) على الولدان في رفع معدل العمر المتوقع للحياة، إلا أن البالغين عانوا من خلل مزمن في وظائف بعض الأعضاء.

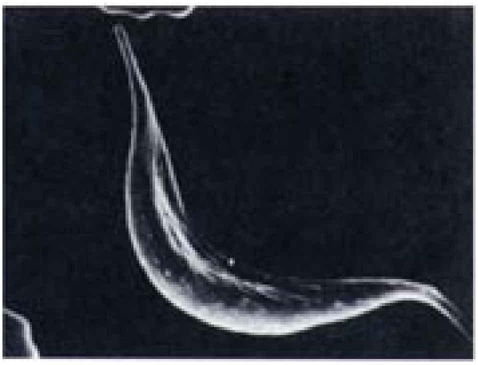
(4) – الهـيـمـوجلوبين الجلوكوزي (الهـيـمـوجلوبين المرتبط بالجليكوزيل) (Glycosylated hemoglobin "HbA1c"): تتم عملية ارتباط الهيموجلوبين بالجليكوزيل (Glycosylation) لا إنزيمياً عندما يدخل جلوكوز الدم إلى الكريات الحمراء ويرتبط هيدروكسيله الكربونيلي (Anomeric OH) مع المجموعات الأمينية لثمالات الليسيل والنهايات الأمينية. ويمكن فصل HbA1c عن HbA بالاستشراب بتبادل الأيونات أو بالرحلان الكهربي. وتتناسب كمية HbA1c – والذي يكون في الحالة السوية حوالي 5 ٪ ـ مع تركيز جلوكوز الدم، وبالتالي فإن قياس كميته يقدم معلومات مفيدة لتدبير الداء السكري. وبما أن العمر النصفي الوسطي للكريات الحمراء هو 60 يوماً، فإن مستوى HbA1c يعكس التركيز الوسطى لجلوكوز الدم على مدى 6-8 أسابيع السابقة لقياسه. ويمكن أن يكون HbA1c المرتفع، والذي يشير إلى ضبط سيئ لجلوكوز الدم، دليلاً للطبيب في اختيار العلاج المناسب (مثلاً ضبط أكثر صرامة للحمية أو إعطاء جرعات زائدة من الإنسولين).

تنجم الثلاسيمية عن نقص تخليق السلاسل الببتيدية ألفا أو بيتا:

في الثلاسيمية ينقص تخليق السلاسل الببتيدية ألفا (الثلاسيمية ألفا) أو بيتا (الثلاسيمية بيتا) مما يؤدي إلى الإصابة بفقر الدم الذي ربما يكن خطيراً (انظر الفصل 42).



(أ)



(ب)

الشكل 7-20 :صورة تفرسية بالمجهر الإلكتروني لكريات دموية حمراء سوية (A) ومنجلية (B). ينجم التغير الذي يصيب جزيئة الجلوبين بيتا، ويسبب هذا التغير البنيوي، عن طفرة في أساس واحد من الدنا (DNA) من T إلى (A) يؤدي إلى حلول القالين مكان الجلوتامات في جزيئة الجلوبين بيتا.

الخلاصة:

تعمل البروتينات الكروية المكتنزة الميوجلوبين (Mb) والهيموجلوبين (Hb) على تخزين الأكسجين ونقله على التوالي. ويكون الميوجلوبين موحوداً والهيموجلوبين رباعياً يتألف من نوعين من القسيمات ($\alpha_2\beta_2$ في هيموجلوبين البالغ "HbA") ويتشارك كل من الميوجلوبين والسلسلة بيتا من الهيموجلوبين، وكلاهما غني بالحلزون ألفا، بالبنية الثانوية والثالثية تقريباً (وليس الأولية). وتسمّى ثمالات الأحماض الأمينية الموجودة في مناطقها الحلزونية الست (من A حتى H) بإعطائها حرف الحلزون ورقماً يشير إلى ترتيب الحمض بدءاً من النهاية الأمينية للحلزون؛ فالثمالة His F8 مثلاً تشير إلى الهيستيدين الذي يشكل الثمالة الثامنة في الحلزون F أو السادس.

المجموعة الضميمة للهيموجلوبين والميوجلوبين هي الهيم وهي مستوية ومجعدة قليلاً رباعية البيرول تحوي في مركزها ذرةً من الحديد في حالة الحديدي (Fe^{2+}). عند إضافة الهيم إلى صميم الميوجلوبين (الميوجلوبين بدون هيم) المتمسخ (Denatured) يعود الأخير ليتطوى إلى هيئته الفعالة. إن المعلومات المخزنة في البنية الأولية لصميم الميوجلوبين (وبقية البروتينات أيضاً) كافية لتُملي تشكيل البنية الثانوية والثالثية.

يرتبط Fe^{2+} الهيم إلى ذرات النتروجين الأربع للهيم وإلى لجينين إضافيتين متوضعين فوق مستوى الهيم وتحته. إحدى الربائط هي الهيستيدين F8؛ وفي كل من الأوكسي ميوجلوبين والأوكسي هيموجلوبين تكون الربيطة السادسة هي O_2، وتكون CO في حالة التسمم بأول أكسيد الكربون الذي ـ وبالرغم من الإعاقة الفراغية بالـ HisF7 ـ يرتبط بقوة أكبر مما يفعل الأكسجين.

توضح منحنيات التشبع قبط الأكسجين وتحرره. ويكون منحني الميوجلوبين زائدي المقطع، في حين يكون منحني الهيموجلوبين شبيه بالحرف S (سينياً). ويعتبر الشكل الأخير أساسياً وواجباً بالنسبة لحامل O_2 الذي يجب أن يكون محملاً تماماً بالأكسجين في الرئتين وأن يسلم المقدار الأعظمي منه للأنسجة. ويعبر عن الألفة النسبية للهيموجلوبينات المختلفة بالقيمة PO_2، أي الضغط الجزئي للأكسجين الذي

يتشبع عنده الهيموجلوبين نصفياً بالأكسجين. ويجري تشبع الهيموجلوبينات في الضغط الجزيئي للعضو التنفسي (مثلا يجري تشبع HbF في PO_2 المشيمة). وتتوضع ثمالتا الهيستيدين الداني (F8) والقاصي (E7) على جانبين متعاكسين من حلقة الهيم. وبالأكسجة تتحرك Fe^{2+} و His F8 والثمالات المرتبطة به نحو حلقة الهيم. وهكذا تترافق أكسجة الهيموجلوبين بتغيرات كبيرة في الهيئة الفراغية.

يؤدي ارتباط الأكسجين بالديوكسي هيموجلوبين إلى تمزيق الروابط الملحية ضمن الوحيدات وفيما بينها مفككاً البنية الرابعية، مما يسهل ارتباط جزيئات O_2 إضافية. يرتبط 2، 3 ـ ثنائي فسفوجليسرات الموجود في الفجوة المركزية للديوكسي هيموجلوبين مع الوحيدات بيتا بروابط ملحية مما يزيد من ثبات الديوكسي هيموجلوبين. وعند الأكسجة، تتقلص الفجوة المركزية ويخرج BPG وتتفكك البنية الرابعية مرة أخرى.

يعمل الهيموجلوبين أيضاً في نقل CO_2 والبروتونات من الأنسجة إلى الرئتين. ويترافق تحرر الأكسجين من الأوكسي هيموجلوبين (HbO_2) في الأنسجة مع قبط البروتونات، وذلك ناجم عن نقص PKa ثمالة الهيستيدين.

تبرز من بين مئات الطفرات (وأغلبها سليمة) طفرات هيموجلوبين الخلية المنجلية (HbS) تؤدي هذه الطفرة إلى إحلال الفالين مكان الجلوتامات 6 في السلسلة بيتا للهيموجلوبين HbA، وهذا يخلق لطخة دبقة يكون لها ما يتممها على الديوكسي هيموجلوبين (وليس على الأوكسي هيموجلوبين). وفي تراكيز الأكسجين المنخفضة، يتبلمر ديوكسي الهيموجلوبين S ليشكل أليافاً تشوه شكل الكريات الحمراء وتصبح منجلية. والثلاسيميّات ألفا وبيتا هي عبارة عن فاقات دم ناجمة عن نقص إنتاج السلاسل ألفا وبيتا للهيموجلوبين A على التوالي.

*** References**:

Bettai S et al: Allosteric mechanism of hemoglobin: Rupture of salt-bridges raises the oxygen affinity of the T-structure. *J Mol Biol* 1998;281:581.

Bunn HF: Pathogenesis and treatment of sickle cell disease. *N Eng J Med* 1997;337:762.

Eaton WJ, Holfrichter J: sickle cell hemoglobin polymerization. *Adv Protein Chem* 1990:40:63.

Everse J, Vandergriff KD. Winslow RM: Hemoglobins: Part B. Biochemical and analytical methods. *Methods Enzymol* 231:1994.

Everse J, Vandergriff KD. Winslow RM: Hemoglobins: Part C. Biophysical and analytical methods. *Methods Enzymol* 232:1994.

Faustino P et al: Dominantly transmitted beta-thalassemia arising from the production of several aberrant mRNA species and one abnormal peptide. *Blood* 1998;91:685.

Hardison RC et al: access to a syllabus of human hemoglobin variants via the world wide web at http://globin.cse.psu.edu. Hemoglobin 1998;22:113.

Huisman THJ: Gamma chain abnormal human fetal hemoglobin variants. *Am J Hematol* 1997;55:159.

Huisman THJ: Recombinant hemoglobin variants. *Hemoglobin* 1998;22:99.

Manning JM et al: Normal and abnormal protein subunit interactions in hemoglobins. J Biol Chem 1998;273:19359.

Mario N, Baudin B, Giboudeau J: Quantitative and qualitative analysis of hemoglobin variants by capillary isoelectric focusing. *J Chromatogr B Biomed Sci* Appl 1998;706:123.

Reed W, Vichinsky EP: New considerations in the treatment of sickle cell disease. *Annu Rev Med* 1998;91:461.

Sheng K et al: Comparative oxidation of hemoglobins A and S. *Blood* 1998;91:3467.

Unzai S et al: Rate constants for O_2 and CO binding to the alpha and beta subunits within the R and T states of human hemoglobin. JJ. *Biol Chem* 1998;273:23150.

Weatherall DJ et al: The hemoglobinopathies. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited diseases*, 7th ed. Scriver CR et al (editors). McGrawHill, 1995.

الفصل الثامن

الإنزيمات: الخصائص العامة

Enzymes: General Properties

مقدمة:

تشتمل المواضيع التي ستدرس في هذا الفصل على أنواع التفاعلات التي تحفزها الإنزيمات ومساهمة التمائم الإنزيمية (Coenzymes) في تفاعلات نقل المجموعات المحفزة بالإنزيمات ومفاهيم نوعية الإنزيمات. كما يتضمن الفصل الحديث عن طرق تنقية (Purification) الإنزيمات وتحليلها وتحديد توزعها داخل الخلايا. بعد ذلك، سنناقش النظائر الإنزيمية (Isoenzymes) والأهمية التشخيصية والمآلية (Prognostic) لإنزيمات المصل، ونختم الفصل بالحديث عن استخدام نوكِليازات الاقتطاع الداخلية (Restriction endonucleases) في تشخيص الأمراض الوراثية.

الأهمية الطبية البيولوجية:

الإنزيمات هي عبارة عن بلمرات (Polymers) بيولوجية تحفز العديد من العمليات الديناميكية التي تجعل الحياة، كما نعرفها، ممكنة. وككل العوامل التي تحدد معدلات حدوث العمليات الفيزيولوجية، تلعب الإنزيمات أدواراً أساسية في الصحة والمرض.

هناك عمليات ليس من الممكن حدوثها بدون الأفعال التنسيقية الدقيقة للإنزيمات نذكر منها تحطم الأغذية لإمداد الجسم بالطاقة ولبنات البناء الكيميائية، وتجمع هذه اللبنات لبناء البروتينات والأغشية والدنا (DNA) الذي يرمز المعلومات الوراثية، واستخدام الطاقة لإنتاج الحركة الخلوية. وفي حين تحدث كافة العمليات الفيزيولوجية خلال الصحة بشكل مرتب ومنظم يحافظ على الاستتباب (Homeostasis)، يضطرب هذا الاستتباب بشدة في الحالات المرضية. فعلى سبيل المثال، يمكن أن تؤثر الأذية النسيجية الشديدة التي تميز التشمع الكبدي (Liver cirrhosis) تأثيراً عميقاً في قدرة الخلايا على تشكيل الإنزيمات التي تحفز عملية أيضية رئيسية كاصطناع اليوريا. يؤدي هذا إلى عدم القدرة على تحويل الأمونيا السامة إلى يوريا غير سامة، فيحدثُ الانسمام بالأمونيا الذي ينجم عنه السبات الكبدي (Hepatic coma). وتعطينا مجموعة الأمراض الوراثية النادرة ـ ولكن كثيراً ما تكون موهنة وأحياناً مميتة ـ أمثلة إضافية مثيرة عن النتائج الفيزيولوجية الفاجعة التي يمكن أن تعقب الخلل في فعالية إنزيم واحد فقط.

وبعد الأذيات النسيجية الشديدة (مثل الاحتشاء القلبي أو الرئوي والطرف المهروس) أو النمو الخلوي غير المسيطر عليه (كالسرطانة البروستاتية Prostatic carcinoma)، تتحرر الإنزيمات ـ التي يمكن أن تكون مميزة لبعض الأنسجة ـ إلى الدم، ولذلك يعطي قياس هذه الإنزيمات في الدم والمصل الأطباء معلومات تشخيصية ومآلية قيمة.

تصنف الإنزيمات حسب نمط التفاعل وآليته:

منذ قرن مضى لم يكن معروفاً سوى القليل من الإنزيمات، ومعظمها يحفز حلمهة (Hydrolysis) الروابط التساهمية. وقد كانت هذه الإنزيمات تسمى بإضافة اللاحقة آز (Ase) لاسم المادة أو الركيزة (Substrate) التي تقوم بحلمهتها. وهكذا تقوم إنزيمات الليباز (Lipases) بحلمهة الدهون (fat) (الليبوز بالإغريقية) ويحلمه الأميلاز (Amylase) النشاء (الأميلون بالإغريقية) وتقوم إنزيمات البروتياز (Proteases) بحلمهة البروتينات. ورغم أن أعداداً كبيرة من هذه المصطلحات ما

زالت مستخدمة حتى يومنا هذا، إلا أن هذه الطريقة في التسمية لم تعد كافية بعد كشف الكثير من الإنزيمات التي تحفز تفاعلات مختلفة للركيزة نفسها مثل أكسدة أو اختزال المجموعة الكحولية للسكر. وفي حين ما تزال اللاحقة آز (Ase) مستخدمة، توضح أسماء الإنزيمات الموجودة اليوم نمط التفاعل المحفز؛ فعلى سبيل المثال، تحفز نازعات الهيدروجين (Dehydrogenases) تفاعلات نزع الهيدروجين وتحفز الإنزيمات الناقلة (Transferases) تفاعلات نقل المجموعات. ومع كشف المزيد من الإنزيمات، ظهر التباس واضح، بحيث غالباً ما يكون من غير الواضح ما هو الإنزيم الذي يتحدث عنه الباحث. وللتصدي لمثل هذه المشكلة، تبنى الاتحاد الدولي للكيمياء الحيوية (IUB) نظاماً معقداً ـ لكنه متقن ـ لتسمية الإنزيمات يعتمد على آلية التفاعل. ورغم وضوح نظام التسمية هذا وغياب الالتباس، ما تزال هناك أسماء ملتبسة مستخدمة في الكتب المرجعية وفي المختبرات السريرية؛ ولهذا السبب لن نقدم هنا سوى الخطوط العامة لنظام التسمية هذا:

1 – شكل التفاعلات والإنزيمات التي تحفزها ستة صفوف (Classes) لكل منها 13-4 صفاً فرعياً (Subclass).

2 – يتكون اسم الإنزيم من قسمين: يعبر الأول عن اسم الركيزة أو الركائز ويعبر الثاني عن نمط التفاعل المحفز وينتهي باللاحقة آز (-ase).

3 – يمكن إضافة معلومات أخرى بين قوسين، إذا كان ذلك ضرورياً لتوضيح التفاعل، فالإنزيم المحفز للتفاعل التالي:

$$\text{L- Malate} + NAD^+ \rightleftharpoons \text{Pyruvate} + CO_2 + NADH + H^+$$

يرمز له بالرمز 1. 1.1. 37 مالات NAD^+ : المؤكسدة المختزلة (النازعة للكربوكسيل).

4 – يكون لكل إنزيم رقم رمزي (code number) يصف نمط التفاعل حسب الصف (الرقم الأول) والصف الفرعي (الرقم الثاني)، والصف تحت الفرعي الثاني (الرقم الثالث). أما الرقم الرابع فهو خاص ببعض الإنزيمات النوعية. وهكذا يدل الرمز EC 2.7.1.1 على الصف الثاني (إنزيم مناقلة) والصف الفرعي السابع (ناقلة الفسفات) والصف تحت الفرعي الأول (يكون الكحول هو المتقبل للفسفات). أما الرقم الرابع

فيدل على الهيكسوكيناز (Hexokinase)، أو الأتب: الهيكسوز اليميني ناقلة الفسفات -6، وهو إنزيم يحفز نقل الفسفات من الأتب ATP إلى زمرة الهيدروكسيل المرتبطة بالكربون السادس للجلوكوز.

يتطلب الكثير من الإنزيمات تميماً إنزيمياً:

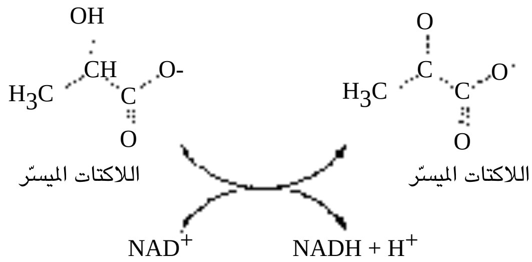
بالإضافة إلى الركيزة، يتطلب الكثير من الإنزيمات التي تحفز نقل المجموعات وتفاعلات أخرى جزيئاً عضوياً ثانياً يعرف باسم تميم الإنزيم (Coenzyme) الذي يصبح الإنزيم بدونه غير فعال. وتقوم التمائم الإنزيمية بزيادة مجموع القدرات المحفزة للإنزيم أكثر بكثير مما تفعله المجموعات الوظيفية للأحماض الأمينية التي تشكل كتلة الإنزيم. وغالباً ما يشار إلى تمائم الإنزيمات التي ترتبط بإحكام مع الإنزيم من خلال روابط تساهمية أو قوى غير تساهمية باسم المجموعات الضّميمة (Prosthetic groups) وتعملُ التمائم الإنزيمية غير المرتبطة والتي تنتشر بحرية كعوامل دوارة للهيدروجين (FADH) أو الهيدريد (NADH) (Hydride) و (NADPH) أو وحدات كيميائية أخرى كمجموعات الأسيل (تميم الإنزيم أ) أو مجموعات الميثيل (الفولات). وتنقل التمائم هذه الذرات أو المجموعات بين مواقع تولدها واستهلاكها؛ وبذلك يمكن أن تعد تمائم الإنزيمات هذه ركائز ثانية للإنزيمات.

وتشتمل الإنزيمات التي تتطلب تمائم إنزيمية على تلك التي تحفز تفاعلات الأكسدة والإرجاع ونقل المجموعات والمصاوغة وتفاعلات تشكيل الروابط التساهمية (الصفوف 1 و 2 و 5 و 6 في نظام التسمية للاتحاد الدولي للكيمياء الحيوية). أما التفاعلات الحالة، بما فيها تفاعلات الحلمهة التي تحفزها الإنزيمات الهاضمة، فلا تحتاج إلى تمائم.

يمكن أن تعد التمائم الإنزيمية ركائز ثانية:

هناك سببان رئيسيان يجعلان من المفيد اعتبار تميم الإنزيم ركيزة ثانية. يتمثل الأول في حقيقة أن التغيرات الكيميائية في تميم الإنزيم تعاكس تماماً تلك التي

تحدث في الركيزة (مثال: يختزل جزيء واحد من تميم الإنزيم مقابل أكسدة جزيء واحد من الركيزة في تفاعلات الأكسدة الاختزالية (Oxidoreduction) (الشكل 8-1).



الشكل 8-1 : يعمل ثنائي نوكليوتيد الأدينين والنيوكوتين أميد (NAD^+) كركيزة مشاركة في تفاعل نازعة هيدروجين اللاكتات.

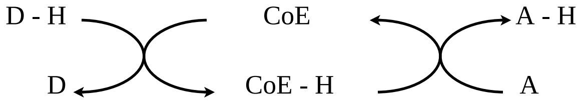
السبب الثاني الذي يستدعي التركيز على تميم الإنزيم بالقدر نفسه هو أن مشاركته في التفاعل يمكن أن يكون ذا أهمية فيزيولوجية أساسية كبيرة. فعلى سبيل المثال، لا تكمن أهمية قدرة العضلات العاملة في الشروط اللاهوائية على تحويل البيروفات إلى لاكتات في أي من المركبين، وإنما يفيد التفاعل في أكسدة تميم الإنزيم المختزل NADH إلى NAD^+. من دون هذا الأخير، لا يمكن أن يستمر تحلل السكر فيتوقف اصطناع الأتب (ATP) لاهوائياً ويتوقف العمل العضلي. ففي ظل الظروف اللاهوائية، يؤدي اختزال البيروفات إلى لاكتات إلى عودة أكسدة NADH والسماح باصطناع الأتب (ATP) ويمكن أن تقوم تفاعلات أخرى بهذه المهمة بالقدر نفسه؛ فالمستقلبات المشتقة من البيروفات في الجراثيم أو الخمائر التي تنمو بشكل لا هوائي تعمل كمؤكسدات للمركب NADH وتختزل هي في الوقت ذاته (الجدول 8-1).

تعمل تمائم إنزيمات ككواشف ناقلة للمجموعات:

في تفاعلات نقل المجموعات الكيميائية الحيوية من النمط:

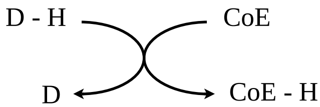
$$D - G + A \rightleftharpoons A - G + D$$

يتم نقل المجموعة الوظيفية G من جزيء معط (D - G) إلى جزيء متقبل (A). تتضمن هذه التفاعلات عادة تميماً إنزيمياً يعمل إما كمُتقبل أخير (كما في تفاعلات نزع الهيدروجين) أو كحامل للمجموعة (كما في تفاعلات نقل الأمين). ويوضح المخطط التالي المفهوم الأخير:

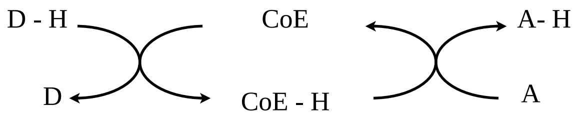


وفي حين يوحي ذلك بتشكل مركب واحد من الشكل CoE-G خلال سير التفاعل الإجمالي، غير أنه يمكن أن تساهم عدة مركبات متوسطة في بعض التفاعلات (كتفاعلات نقل الأمين).

وعندما تكون المجموعة المنقولة هي الهيدروجين نكتفي بتمثيل نصف التفاعل الأيسر فقط:



وهذه لا تمثل في الواقع سوى حالة خاصة من تفاعلات نقل المجموعات والتي أفضل ما تفهم بالتفاعلات التي تحدث في الخلايا السليمة (الجدول 8-1) التي يمكن تمثيلها كما يلي:



الشكل الحياتي	الناتج المختزل	المؤكسد
العضل، الجراثيم اللبنية	لاكتات	بيروفات
الخمائر	إيثانول	أسيتالدهيد
الإشريكيات القولونية	ألفا جليسيروفسفات	ثنائي هيدروكسي أسيتون فسفات
الجراثيم اللاكتيكية	مانيتول	فركتوز

الجدول 8-1 : آليات إعادة توليد NAD^+ لاهوائياً.

يمكن تصنيف تمائم الإنزيمات حسب المجموعة التي تسهل نقلها:

اعتماداً على المفهوم السابق، يمكننا تصنيف التمائم الإنزيمية كما يلي:

تمائم لنقل مجموعات أخرى غير الهيدروجين:

السكريات المفسفتة.

سلفهيدريل التميم الإنزيمي A.

بيروفسفات الثيامين.

فسفات البيريدكسال.

التمائم الإنزيمية للفولات.

البيوتين.

التمائم الإنزيمية للكوباميد (الڤيتامين B_{12}).

حمض الليبويك (Lipoic acid).

تمائم إنزيمية لنقل الهيدروجين:

- NAD^+، $NADP^+$.
- FMN ، FAD.
- حمض الليبويك.
- التميم الإنزيمي Q.

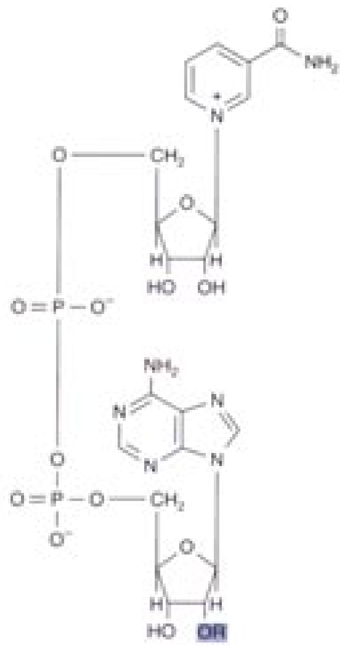
يشتق العديد من التمائم الإنزيمية من الفيتامينات B وأحادي فسفات الأدينوزين (AMP):

تشكل الفيتامينات B جزءاً من بنية العديد من التمائم الإنزيمية، وتعتبر الفيتامينات B (النيكوتيناميد والثيامين والريبوفلافين وحمض البانتوثينيك) مكونات أساسية في التمائم الإنزيمية الخاصة بالأكسدة والاختزال البيولوجيتين، في حين يعمل حمض الفوليك والكوباميد كتميمين إنزيميين في استقلاب المجموعات أحادي الكربون. ويحتوي العديد من التمائم الإنزيمية على الأدينين والريبوز والفسفات، وهي مشتقات لأحادي فسفات الأدينوزين (AMP)، ومن الأمثلة على ذلك NAD^+ و $NADP^+$ (والشكل 8-2).

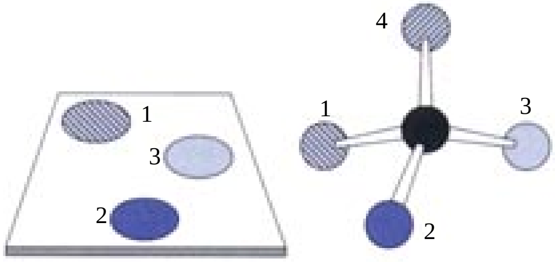
الإنزيمات هي حفازات فراغية نوعية:

تشكل معظم الركائز ثلاثة روابط على الأقل مع الإنزيمات. هذا «الارتباط ثلاثي الاتجاه» يؤدي إلى عدم تناظر الجزيء المتناظر بطريقة أخرى. ويظهر (الشكل 8-3) جزيئاً من ركيزة ممثلاً بشكل ذرة كربون تحمل ثلاث مجموعات مختلفة، وهو على وشك الارتباط بثلاث نقاط على مقر إنزيمي. وإذا جرى الوصول إلى هذا المقر من جهة واحدة فقط وكانت الذرات والمقرات المتتامة (Complementary) فقط قابلة للتآثر (فرضيات صالحة لإنزيمات حقيقية)، عندها يستطيع الجزيء الارتباط بطريقة واحدة فقط. ويمكن أن ينحصر التفاعل بالذرات المرتبطة مع المقرين 1 و 2 حتى ولو

كانت الذرتان 1 و 4 متماثلتين تماماً. وإذا أدرنا جزيء الركيزة نظرياً في الفراغ، سنلاحظ أنه يمكن أن يتصل عند ثلاث نقاط بجهة واحدة من مستوي المقر وباتجاه واحد فقط. ونتيجة لذلك تصبح الذرتان 1 و 4 ـ رغم تماثلهما ـ منفصلتين عند ارتباط الركيزة بالإنزيم، وبذلك يمكن أن يشمل التغير الكيميائي الذرة 1 وليس الذرة 4، أو بالعكس. وفي حين أن المقرات الفعّالة للإنزيمات ليست سطوحاً مستوية كما هو ظاهر في الشكل 8-3، غير أن هذا الشكل يوضح بشكل عام ـ على سبيل المثال ـ السبب في أن الاختزال المحفز بالإنزيم للبيروفات العاطلة بصرياً ينجم عنه تشكيل اللاكتات المياسرة، وليس اللاكتات اليمينية.



الشكل 8-2 : ثنائي نوكليوتيد الأدينين والنيوكوتين أميد (NAD^+) وثنائي نوكليوتيد الأدينين والنيوكوتين أميد المفسفت ($NADP^+$). وتكون المجموعة R مجرد هيدروجين في الأول بينما تكون فسفات (OPO_3^{2-}) في الثاني.



الشكل 8-3 : تمثيل الارتباط ثلاثي المواضع بين الركيزة والمقر الفعال المستوى للإنزيم.

تحفز الإنزيمات تفاعلاً نوعياً واحداً أو نمطاً تفاعلياً واحداً:

قد تكون قدرة الإنزيم على تحفيز تفاعل معين واحد، وواحد فقط، أم خصائصه المهمة. وبذلك يمكن تنظيم معدلات العمليات الأيضية بتغيير الكفاءة المحفزة للإنزيمات النوعية. ويقوم الكثير من الإنزيمات بتحفيز النمط نفسه من التفاعل (نقل الفسفات، الأكسدة والإرجاع... إلخ.) على عدد صغير من الركائز المرتبطة بنيوياً مع أن ذلك يجري عموماً بمعدلات منخفضة بوضوح. وتميل التفاعلات مع الركائز البديلة إلى الحدوث فقط عندما توجد بتراكيز مرتفعة تندر مصادفتها في الخلية الحية، لكن يمكن تحضيرها في المختبر. وتستخدم هنا الركائز الطبيعية والتخليقية البديلة لتيسير كشف الإنزيمات ودراسة آلياتها المُحَفِّزة.

تبدي الإنزيمات نوعية بصرية (Optical specificity):

إذا استثنينا إنزيمات الإبيميراز (Epimerases) (الراسيماز Racemases) التي تحفز التحول البيني للمصاوغات البصرية، فإن الإنزيمات تبدي نوعية بصرية مطلقة لجزء من جزيء الركيزة على الأقل. وهكذا تحفز إنزيمات سبيل تحلل السكر والسبيل التأكسدي المباشر التحول البيني للسكاكر المفسفتة الميمنة وليس المياسرة. وتعمل معظم إنزيمات الثدييات (مع القليل من الاستثناءات كأكسيداز الأحماض الأمينية الميمنة في الكلية) على المصاوغات المياسرة للأحماض الأمينية.

يمكن أن تمتد النوعية البصرية إلى جزء من جزيء الركيزة أو إليه كاملاً؛ وتمثل إنزيمات الجليكوزيداز كلا الحالتين، فهي تحفز حلمهة الروابط الجليكوزيدية بين السكر والكحول، وهي نوعية تماماً تجاه الجزء السكري ونوع الارتباط (ألفا أو بيتا) لكنها غير نوعية نسبياً تجاه الجزء غير السكّري (Aglycone).

تكون الإنزيمات نوعية تجاه نمط التفاعل الذي تحفزه:

تعمل إنزيمات الحل على مجموعات كيميائية نوعية، فمثلاً تعمل إنزيمات الجليكوزيداز على الجليكوزيدات ويعمل الببسين والتربسين على الروابط الببتيدية، وتعمل إنزيمات الإستراز على الإسترات. ويمكن أن تهاجم عدة ركائز ببتيدية مختلفة مما يقلل عدد الإنزيمات الهاضمة المطلوبة نوعاً ما. كما يمكن أن تحفز إنزيمات البروتياز حلمهة الإسترات، وقد أدى استعمال الإسترات كركائز مخلقة إلى تيسير دراسة آلية فعل هذه الإنزيمات.

وتبدي بعض إنزيمات الحل درجة أعلى من النوعية؛ فالكيموتربسين (Chymotrypsin) يحلمه الروابط الببتيدية التي يساهم في مجموعتها الكربوكسيلية الأحماض الأمينية العطرية (Aromatic) (الفينيل ألانين أو التيروزين أو التريبتوفان). وتقوم إنزيمات الكروبوكسي ببتيداز والأمينو ببتيداز بنزع حمض أميني واحد من الأحماض الأمينية الموجودة في النهاية الكربوكسيلية أو الأمينية للسلاسل عديدة الببتيد، على التوالي.

ومع أن القليل من إنزيمات الأكسدة الاختزالية تستخدم NAD^+ أو $NADP^+$ كمتقبل للإلكترونات، فإن معظمها يستخدم على وجه الحصر واحداً منها. وعلى العموم، تستخدم إنزيمات الأكسدة الاختزالية المشاركة في العمليات الحيوية التخليقية (كتخليق الأحماض الدهنية أو الستيرول) التميم NADPH كمختزل (Reductant)، في حين تستخدم تلك المشاركة في عمليات التدرك (مثل تحلل السكر وأكسدة الأحماض الدهنية) التميم NAD^+ كمؤكسد.

يسهل النشاط التحفيزي للإنزيم عملية كشفه:

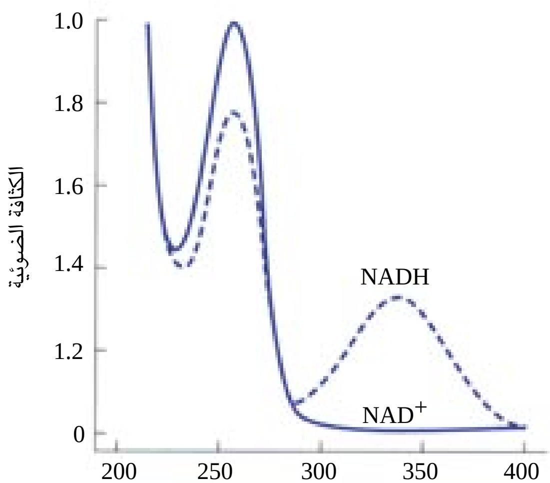
يساهم صغر كمية الإنزيمات الموجودة في الخلايا في تعقيد معايرة الإنزيم في الخلاصات (Extracts) أو السوائل النسيجية. ومن حسن الحظ، يؤمن النشاط التحفيزي للإنزيم مسباراً حساساً ونوعياً لقياس الأخير، وتؤدي القدرة على تحفيز تحول آلاف أو عشرات الآلاف أو أكثر من جزيئات الركيزة إلى نواتج خلال فترة زمنية قصيرة إلى تزويد كل جزيء إنزيمي بالقدرة على تضخيم وجوده كيميائياً.

ولقياس كمية الإنزيم في عينة من خلاصة نسيجية أو أي سائل بيولوجي آخر، يقاس معدل التفاعل المحفز بالإنزيم في العينة، ويكون هذا المعدل المقاس في ظل ظروف معينة متناسباً مع كمية الإنزيم الموجود. وبما أنه من الصعب تعيين عدد جزيئات الإنزيم أو كتلته، لذلك يعبر عن النتائج بالوحدات الإنزيمية (Enzyme units) ويمكن بعد ذلك مقارنة المقادير النسبية للإنزيم في مختلف الخلاصات. ويعرف الاتحاد الدولي للكيمياء الحيوية وحدة النشاط الإنزيمي على أنها عدد الميكرومولات (1 مكمول = 10^{-6} مول) من الركيزة المتافعلة أو الناتج المتحول في الدقيقة.

تقاس نازعات الهيدروجين المعتمدة على NAD^+ عند الطول الموجي 340 نانومتراً (نم):

في التفاعلات التي تشمل NAD^+ أو $NADP^+$ (نازعات الهيدروجين)، تبرز أهمية خاصية $NADH^+$ أو NADPH ولكن ليس NAD^+ أو $NADP^+$ المتمثلة في قدرتها على امتصاص الضوء ذي الطول الموجي المساوي لـ 340 نم (الشكل 8-4). فعند

أكسدة NADH إلى NAD^+ تنخفض الكثافة البصرية (OD) عند طول الموجة 340 نم بمقدار يتناسب مع كمية NADH المؤكسدة. وبالمثل، عندما يختزل NAD^+ تزداد الكثافة البصرية عند 340 نم بمقدار متناسب مع كمية NADH المتشكلة. ويمكن استخدام هذا التغير في الكثافة البصرية عند 340 نم لإجراء التحليل الكمي لأي نازعة هيدروجين معتمدة على NAD^+ أو $NADP^+$ كما يلي: بالنسبة إلى نازعة الهيدروجين التي تحفز أكسدة NADH بواسطة ركيزتها، يكون معدل نقص الكثافة البصرية عند 340 نم متناسباً طرداً مع كمية الإنزيم. وبالتالي، يسمح قياس معدل انخفاض الكثافة البصرية عند 340 نم باستنتاج كمية الإنزيم الموجودة في العينة البيولوجية كالمصل أو الخلاصة النسيجية معبراً عنها بوحدات النشاط الإنزيمي.



الشكل 4-8 : أطياف امتصاص ثنائي نوكليوتيد الأدينين والنيكوتين أميد (NAD^+) وثنائي نوكليوتيد الأدينين والنيكوتين أميد المفسفت ($NADP^+$). الكثافات هنا هي لمحلول تركيزه 44 مجم/ل في حجرة طول مسارها الضوئي يساوي 1 سم. إن أطياف امتصاص ثنائي نوكليوتيد الأدينين والنيكوتين أميد المفسفت المؤكسد ($NADP^+$) وثنائي نوكليوتيد الأدينين والنيكوتين أميد المفسفت المختزل (NADPH) مضاهئة لأطياف ثنائي نوكليوتيد الأدينين والنيكوتين أميد المؤكسد (NAD^+) وثنائي نوكليوتيد الأدينين والنيكوتين أميد المختزل (NADH)، على الترتيب.

يمكن مقايسة العديد من الإنزيمات بقرنها مع إحدى نازعات الهيدروجين:

قيس في المثال السابق معدل تشكل ناتج معين (NADH) لتعيين النشاط الإنزيمي. ويمكن مقايسة الإنزيمات الأخرى ـ غير نازعات الهيدروجين ـ أيضاً بقياس معدل ظهور الناتج (أو معدل اختفاء الركيزة نادراً). وتحدد الخصائص الفيزيائية والكيميائية للناتج أو الركيزة الطريقة النوعية لتحديد الكمية. وغالباً ما نلجأ إلى «قرن» (Couple) ناتج التفاعل مع نازعة الهيدروجين التي يكون هذا الناتج ركيزة لها (الشكل 8-5).

الإنزيمات النقية ضرورية لفهم بنيتها ووظيفتها وآليات تفاعلها وتنظيمها:

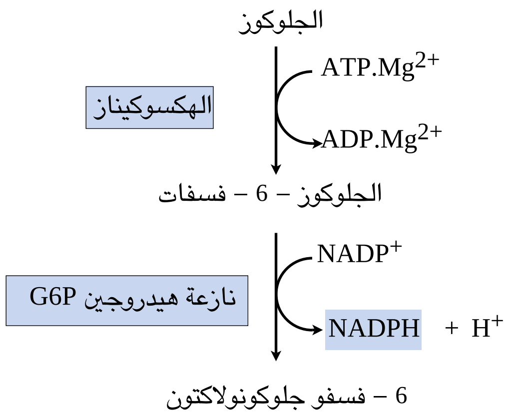
لقد نجمت معظم معارفنا عن التفاعلات الكيميائة والمتوسطات (Intermediates) في السبل الأيضية والآليات الناظمة التي تتحكم بمستوى التحفيز عن دراسة الإنزيمات النقية. كما أن الإنزيمات شديدة النقاوة مطلوبة أيضاً للحصول على المعلومات المتعلقة بحركية (Kinetics) الإنزيمات وتمائمها العاملة (Cofactors) ومقراتها الفعالة (Active sites) وبنيتها وآليات فعلها.

تزيد التنقية من النشاط النوعي:

إن الهدف من تنقية الإنزيمات هو عزل إنزيم معين من خلاصة خلوية خام تحتوي على عدد من المكونات الأخرى. ويمكن نزع الجزيئات الصغيرة بواسطة الديال أو الترشيح الهلامي، وتنزع الأحماض النووية بالترسيب بالمضاد الحيوي الستربتوميسين وهكذا. لكن المشكلة تكمن في فصل الإنزيم المطلوب من بين مئات البروتينات المماثلة له كيميائياً وفيزيائياً.

يظهر (الجدول 8-2) تطور التقنية النموذجية لتنقية أحد الإنزيمات الكبدية. هذا التطور أدى إلى الحصول على نقاوة إجمالية زادت بمقدار 490 ضعفاً. لاحظ كيف

تم حساب مقدار النشاط والكشف (Recovery) النوعي للنشاط الأولي. والهدف هو الحصول على أقصى نشاط نوعي (عدد وحدات الإنزيم في كل 1 ملج من البروتين)، مع أفضل نسبة كشف ممكنة للنشاط الأولي.



الشكل 8-5 : المقايسة المقترنة لنشاط الهكسوكيناز. يقرن التفاعل بتفاعل محفز بنازعة هيدروجين الجلوكوز ـ 6 ـ فسفات (G6P). ويضاف كل من نازعة هيدروجين الجلوكوز – 6 – فسفات والجلوكوز والأتب (ATP) وأيونات المغنزيوم وثنائي نوكليوتيد الأدينين والنيوكوتين أميد المفسفت (NADP+) بكميات زائدة. يسمح ذلك لكمية الهكسوكيناز الموجودة بتحديد المعدل الإجمالي للتفاعل المقترن ومعدل تشكل ثنائي نوكليوتيد الأدينين والنيوكوتين أميد المفسفت المختزل (NADPH). يمكن قياس هذا الأخير عند طول الموجة 340 نم.

نحصل على الإنزيمات من المصادر الطبيعية أو من خلايا أدخلت إليها الجينات المنسلة (Cloned) المرمزة للإنزيم:

كانت الأبحاث الأولى عن الإنزيمات مقتصرة على تلك البروتينات التي يمكن تنقيتها من الخلايا الحيوانية أو النباتية أو الجراثيم التي توجد فيها بشكل طبيعي. أما الآن فقد مكنت تكنولوجيا الدنا المأشوب (Recombinant DNA technology) العلماء من إنتاج البروتينات داخل خلايا لا تحتوي عليها بشكل طبيعي. وتعتبر الجراثيم والخمائر من الخلايا الثوية النموذجية لهذه العملية لأنه من السهل أن تنمو بأعداد كبيرة. كما مكنت القدرة على تصنيع البروتينات المأشوبة (Recombinant proteins) بكميات كبيرة نسبياً العلماء من عزل الإنزيمات التي توجد في الخلايا بتراكيز منخفضة لدرجة يصعب معها تنقيتها بشكل طبيعي. علاوة على ذلك، أصبح

لدى العلماء القدرة على التغيير في الدنا (DNA) المرمز للبروتينات بواسطة التطفير الموجه بالمقر (Site-directed mutagenesis)، مما يمكنهم من إضافة أحماض أمينية معينة للإنزيم المأشوب أو نزعها أو تغييرها لتسهيل تعيين وظيفة هذه الأحماض وأدوارها البنيوية؛ كما يمكن إدخال بعض التعديلات على البروتين لجعل تنقيته أكثر سهولة. ومع ذلك ما تزال تنقية الإنزيمات من مصادرها الطبيعية أمراً ضرورياً وخصوصاً بالنسبة لتعيين طبيعة التحويرات بعد الترجمة ودورها وفائدتها في تنظيم موضع الإنزيم وكفاءته التحفيزية.

الجزء الإنزيمي	النشاط الكلي (مللي واحدة)[1]	البروتين الكلي (مجم)	النشاط النوعي (مللي/ وحدة مجم)	الكشف الإجمالي (٪)
الجناسة الكبدية الخام	100,000	10,000	10	(100)
السائل الطافي بعد التثفيل 10,000 × g	98,000	8,000	12.2	98
الرسابة بعد المعالجة بمحلول كبريتات الأمونيوم (40-50 ٪)	90,000	1,500	60	90
الرسابة بعد المعالجة بمحلول الأسيتون (20-35 ٪)	60,000	250	240	60
الأجزاء 80-110 بعد الاستشراب بتبادل الأنيونات على DEAE – سلولوز[2]	58,000	29	2,000	58
الرسابة بعد المعالجة بمحلول كبريتات الأمونيوم (43-48 ٪)	52,000	20	2,600	52
البلورات الأولى	50,000	12	4,160	50
إعادة البلورة	49,000	10	4,900	49

الجدول 8-2 : ملخص الخطة النموذجية لتنقية الإنزيمات.

1– مللي وحدة (mU) = وحدات المللي إنزيم؛ عدد المللي مولات من الركيزة التي تتحول خلال دقيقة دقيقة.

2– DEAE – سلولوز : ثنائي إيثيل أمينو ميثيل السلولوز.

تتطلب التنقية استخدام الاستشراب بتبادل الأيونات أو بالاستبعاد الحجمي:

تقوم الطرائق التقليدية المستخدمة لتنقية البروتينات على الترسيب بالتراكيز الملحية المختلفة (غالباً سلفات الأمونيوم أو الصوديوم) أو استخدام المذيبات (الأسيتون أو الإيثانول)، أو التمسخ التفريقي بالحرارة أو بدرجات الباهاء (pH) المختلفة، أو التنبيذ التفريقي، أو الترشيح الهلامي، أو الرحلان الكهربي. ويعد امتزاز (Adsorption) البروتينات وشطفها (Elution) الانتقائيان باستخدام مبادل الأيونات السلولوزي (ثنائي إيثيل أمينو إيثيل السلولوز (DEAE)) ومبادل الكاتيونات (كربوكسي ميثيل السلولوز(CMC)) من الطرائق الناجحة جداً أيضاً في تنقية البروتينات.

ونسوق هنا المثال التالي: تعدل باهاء (pH) الخلاصة المائية للنسيج الكبدي إلى القيمة 7.5 التي تحمل عندها معظم البروتينات شحنة سلبية صرفة. يطبق بعد ذلك المزيج من البروتينات الذوابة على عمود سلولوز DEAD مدروء عند الباهاء (pH) 7.5 التي يكون عندها الـ DEAD مشحوناً بشحنة إيجابية. هذا يؤدي إلى ارتباط البروتينات المشحونة سلباً بالـ DEAD بتأثر الشحنات المتعاكسة، بينما تعبر البروتينات غير المشحونة أو المشحونة إيجابياً العمود مباشرة؛ ثم يشطف العمود باستخدام مدروج محلول كلور الصوديوم في دارئة باهاؤها 7.5 (بدءاً بالتركيز المنخفض). وبما أن أيونة الكلور السلبية تنافس البروتينات على الارتباط بالدعامة المشحونة إيجابياً، تشطف البروتينات انتقائياً بحيث تنفك البروتينات ذات الرابطة الأضعف مع الدعامة أولاً تليها المرتبطة بقوة أكبر وهكذا.. ويمكن أيضاً استخدام دعامة مشحونة سلبياً مثل كربوكسي ميثيل السلولوز أو فسفو السلولوز عند باهاء منخفضة نسبياً لضمان شَحن البروتينات بشحنة إيجابية أكبر.

يمكن أيضاً فصل البروتينات على مواد مسامية (Porous) تعرف باسم «المناخل الجزيئية» (Molcular sieves). وعند تطبيق مزيج البروتينات على العمود الحاوي على منخل جزيئي، توزع البروتينات الصغيرة نفسها في الفراغات بين الجزيئات وفي المسامات الداخلية للدعامة معاً. وعندما يعبر مزيج من البروتينات مختلفة

الأحجام خلال العمود، تعاق حركة البروتينات الصغيرة نسبة للبروتينات الكبيرة لدرجة لا تسمح لها بدخول المسامات. وهكذا تخرج البروتينات الكبيرة من العمود قبل البروتينات الأصغر حجماً. ويمثل بروفيل (شاكلة) الشطف (Elusion profile) البروتينات متدرجة من الأكبر حجماً إلى الأصغر. ولا بد من أن نذكر هنا أن المناخل الجزيئية تتصف بقدرة محدودة وأنّها لا تستخدم عموماً إلا بعد إنجاز تنقية سابقة بالطرق الأخرى.

تتعرف دعائم الاستشراب بالألفة على مناطقَ نوعية في الإنزيمات:

تتمثل الخاصة الأبرز للاستشراب بالألفة (Affinity chromatography) في قدرته على النزع الانتقائي لبروتين معين واحد أو لعدد صغير من بروتينات معينة موجودة في مزيج بروتيني معقد. وتستخدم الطريقة لجيناً (Ligand) ثابتاً (غير متحرك) يتآثر نوعياً مع الإنزيم المطلوب تنقيته. وعندما يعرض مزيج البروتينات إلى هذا اللجين، ترتبط معه فقط تلك البروتينات التي تتآثر بقوة معه؛ أما البروتينات غير المرغوبة فتعبر العمود وتطرح مباشرة خارجه. يشطف بعد ذلك البروتين المرغوب عن اللجين المثبت باستخدام تركيز مرتفع من الملح أو الشكل الذواب للجين. وتكون عمليات التنقية المنجزة بطرق الاستشراب بالألفة فعالة، وتتفوق على التطبيق الناجح للطرق المدرسية الكثيرة.

ومن اللجائن المفضلة في هذه التقنية نذكر مشتقات الركائز أو التمائم الإنزيمية أو الأصبغة العضوية (Organic dyes) التي تعمل كمضاهئات نوكليوتيدية أو تميمية مرتبطة تساهمياً بدعامة خاملة (مثل سيفاديكس الدنا (DNA-Sefadex) أو السيفاروز الأزرق). وترتبط هذه اللجائن بالدعامة بواسطة جزيء رابط (Linker) يبلغ طوله 3-8 ذرات كربون ولكن يمكن أن يعيق «الرابط» الكاره للماء الفصل بإدخال عنصر الاستشراب باللجين الكاره للماء (انظر لاحقاً). ومن الأمثلة على نجاح الاستشراب بالألفة تنقية الكثير من نازعات الهيدروجين المختلفة على دعائم ذات ألفة للناد (NAD^+). وفي حين أن الكثير من نازعات الهيدروجين يمكن أن ترتبط وتشطف معاً عند معالجة العمود بالناد (NAD^+) الذواب، فإن الاستعمال

اللاحق لدعائم أليفة للركيزة (وليس التميم الإنزيمي) أو الشطف باستخدام «مزيج ثلاثي مجهض» (Abortive ternary mixture) لناتج واحد وركيزة واحدة قد أثبتا نجاحهما في العديد من الحالات.

في الاستشراب باللجائن الكارهة للماء، يربط المركب الهيدروكربوني الألكيلي (Alkyl) أو الأريلي (Aryl) بدعامة مثل السفاديكس، ويشمل استبقاء البروتينات على هذه الدعائم تآثرات كارهة للماء بين الألكيل ومناطق من البروتين كارهة للماء أيضاً. وتوضع البروتينات في محاليل تحتوي على تركيز مرتفع من ملح ما (مثل سلفات الأمونيوم)، وتشطف بمداريج متناقصة من الملح نفسه.

تؤمن لنا تكنولوجيا الدنا المأشوب مصدراً غنياً للإنزيمات:

لقد تم تنسيل (Cloning) الكثير من الجينات المرمزة للإنزيمات وسلسلتها وإقحامها في نواقل (Vectors) مشتقة من البلازميدات (Plasmids) أو العاثيات (Phages) حيث يمكن التحكم بالتعبير الجيني لهذه الجينات بواسطة معزاز (Promoter) قوي ونشيط. (انظر الفصل 42 لمعرفة المزيد عن تقنية الدنا المأشوب). يستطيع مثل هذا المعزاز أن «يقود» إنتاج الإنزيم المأشوب بمستويات أكبر بكثير من تلك الموجودة في المصادر الطبيعية. وباستخدام معزاز ينظم بمحرض (Inducer) كيميائي نوعي، يمكن تنظيم التعبير عن الإنزيم المأشوب بشكل دقيق.

وبشكل عام، تدخل نواقل التعبير (Expression vectors) هذه في أحياء مجهرية سهلة النمو كالإشريكية القولونية أو الخمائر لإنتاج إنزيمات مأشوبة. ويجب التنبيه هنا إلى أنه لا يمكن التعبير عن كافة البروتينات الحيوانية بشكل فعال في هذه الخلايا. وفي هذه الحالات يجب أن يعبر عن البروتين المرغوب في خلايا حيوانية مستنبتة. وهناك نظام شائع يستخدم الڤيروس العصوي (Baculovirus) كنواقل تعبيرية تقحم في خلايا الحشرات المستنبتة.

تنقى البروتينات المدمجة المأشوبة بالاستشراب بالألفة:

بالإضافة إلى تأمينها لمصدر غني للإنزيمات يسهل الحصول على الشكل النقي

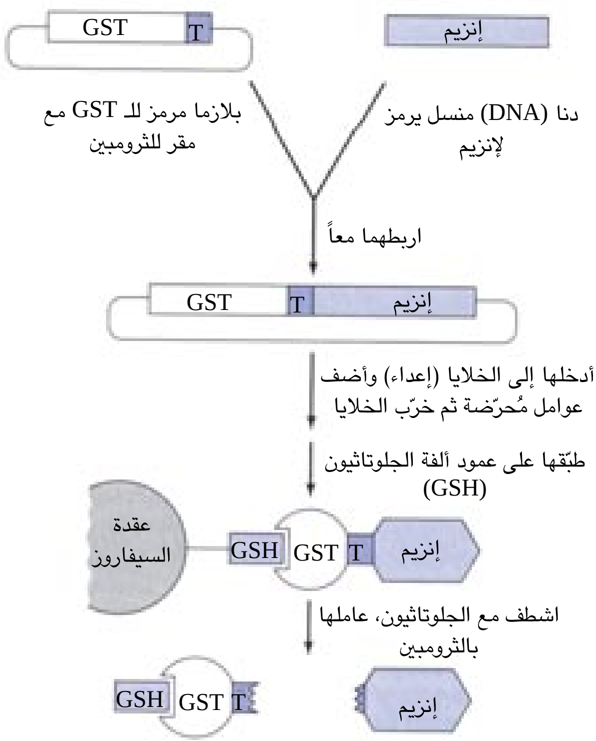
منها، تستخدم تقنية الدنا (DNA) المأشوب لتكوين بروتينات محورة يمكن تنقيتها بواسطة الاستشراب بالألفة (Affinity). ولتحقيق ذلك نقوم بربط مجموعة من النوكليوتيدات ترمز بمجموعها للواحق (Extensions) بروتينية إلى سلسلة نوكليوتيدات الجين الأصلي فيتشكل ما يسمى البروتين المدمج (Fusion protein) الذي يعتبر لجيناً نوعياً لداعم خاص يستخدم في تقنية الاستشراب بالألفة. إحدى الطرق الشائعة لتحقيق ذلك تتضمن ربط 5-6 ثمالات هيستيدين أو ربط الحقل الرابط للركيزة (Substrate-binding domain) لناقلة سلفهدريل الجلوتاثيون (Glutathione S-transferase) إلى النهاية الكربوكسيلية أو الأمينية للسلسلة الببتيدية للإنزيم المدروس. يمكن بعد ذلك تنقية هذا البروتين المدمج المأشوب بتطبيقه على عمود ثبتت إليه أيونات ثنائية التكافؤ كالنيكل (Ni^{2+}) في حال دمج الهيستيدينات) أو الجلوتاثيون (في حال دمج الحقل الرابط للركيزة لناقلة سلفهدريل الجلوتاثيون) (الشكل 8-6). هذا ومن الممكن أن تؤدي عملية الدمج إلى إقحام موقع نوعي لأحد إنزيمات البروتياز النوعية جداً كالثرومبين في المنطقة التي تربط بين جزئين من البروتين المدمج مما يسمح بنزع الحقل المُضاف لاحقاً بعد التنقية بالألفة.

يكشف لنا الرحلان الكهربي على عديد الأكريلاميد وجود الملوثات:

إن أفضل طريقة لتحديد تجانس البروتينات هي الرحلان الكهربي على هلامة عديد الأكريلاميد (PAGE) تحت ظروف مختلفة أكثرها شيوعاً هو وجود سلفات دوديسيل الصوديوم (SDS). هذا الأخير هو عبارة عن مطهر أيوني يفصل البروتينات عديدة المواحيد إلى وحيداتها. وبما أن كل رابطة ببتيدية ترتبط تقريباً بجزيئين من SDS، فإن عديد الببتيد يصبح حاملاً لشحنة سلبية قوية. هذا يجعل المسافة التي يقطعها عديد الببتيد باتجاه المصعد (Anode) خلال الرحلان متعلّقة فقط بكتلته الجزيئية النسبية (Mr). ومن الطرق الأخرى تطبيق تقنية PAGE في ظروفه الأصلية (دون وجود SDS أو أي من الممسخات الأُخرى). هذه الظروف تسمح بالحفاظ على البنية الرابعية أحياناً النشاط التحفيزي للإنزيم أيضاً.

وفي تقنية الـ PAGE ثنائية البعد (O'Farrell)، يفصل البعد الأول البروتينات

المتمسخة على أساس قيم باپائها (PI) عن طريق موازنتها في الحقل الكهربي الحاوي على مدروج اليوريا والباهاء (pH) المصان بواسطة بلمرات الكهارل المذبذبة (Polymerized ampholytes)؛ بعد ذلك يقوم البعد الثاني بفصل البروتينات، بعد معالجتها بـ SDS، على أساس الحجم الجزيئي لوحيداتها البروتينية.



الشكل 6-8 : استخدام بروتين ناقلة سلفهدريل الجلوتاثيون (GST) المدمج لتنقية الإنزيمات المأشوبة.

يمكن أن تتوضع الإنزيمات في عضيات (Organelles) معينة دون الأخرى:

يكتسب الترتيب الفراغي وتحاوز (Compartmentalization) الإنزيمات والركائز والتمائم العاملة (Cofactors) داخل الخلية أهمية رئيسية. فعلى سبيل المثال، تتوضع إنزيمات تحلل السكر في هيولى (Cytoplasm) الخلية الكبدية بينما تستقر إنزيمات دورة حمض الستريك داخل المتقدرات. ويمكن دراسة توزع الإنزيمات في العصيات تحت الخلوية بتجزيء (Fractionation) الجناسة الخلوية بالتنبيذ بسرعات عالية ثم دراسة المحتوى الإنزيمي لكل جزء (Fraction).

يجري تحديد توضع إنزيم معين في نسيج أو خلية ما بشكل مطابق نسبياً للواقع باستخدام الطرائق الكيميائية النسيجية (Histochemical) أو ما يسمى «علم الإنزيمات النسيجي» (Histoenzymology) تعالج شرائح نسيجية مجمدة رقيقة (2-10 ميكرومتر) بركيزة إنزيم معين، مما يسمح بتكوين منتج التفاعل المحفز بذاك الإنزيم حيث يوجد؛ فإذا كان هذا الناتج ملوناً وغير ذواب، يبقى في مكان تشكله ويدل على مكان وجود الإنزيم. وبهذا نستطيع القول أن علم الإنزيمات النسيجي يقدم لنا صورة بيانية وفيزيولوجية نسبياً عن نماذج توزع الإنزيمات.

النظائر الإنزيمية هي عبارة عن أشكال مختلفة فيزيائياً للفعالية التحفيزية نفسها:

عندما تم تطبيق تقنيات تنقية الإنزيمات، مثلاً على نازعة هيدروجين المالات من مصادر مختلفة (كبد الجرذ والإشريكية القولونية)، أصبح جلياً أنه رغم أن الإنزيمين يحفزان التفاعل نفسه، إلا أن خصائصهما الفيزيائية والكيميائية تختلفان بشكل ملحوظ ومهم. مثل هذه الإنزيمات المختلفة كيميائياً وفيزيائياً وتحفز التفاعل نفسه يمكن أن توجد أيضاً في أنسجة مختلفة داخل العضوية نفسها أو في أنماط مختلفة من الخلايا أو في الأحياز داخل الخلوية أو داخل إحدى بدائيات النّوى (Prokaryotes) كالإشريكية القولونية. هذا الاكتشاف تلا تطبيق طرائق الفصل باستخدام الرحلان الكهربي لفصل الأشكال المختلفة رحلانياً للفعالية التحفيزية نفسها.

وفي حين يشمل تعبير النظائر الإنزيمية أو الإيزوزيمات (Isozymes or isoenzymes) كل الأمثلة السابقة عن الأشكال المختلفة فيزيائياً للفعالية نفسها التحفيزية، فإنه محدد أكثر في المجال العملي وخاصة في الطب السريري حيث يعني فقط تلك الأشكال المختلفة فيزيائياً والقابلة للفصل لإنزيم معين موجود في أنماط مختلفة من الخلايا أو في أحياز تحت خلوية في الإنسان.

توجد النظائر الإنزيمية بشكل شائع في مصل وأنسجة كل الفقاريات والحشرات والنباتات والعضويات وحيدة الخلايا، ويختلف نوع هذه الإنزيمات وعددها، وأصبح لدينا معلومات عن العديد من نظائر نازعات الهيدروجين وناقلات الأمين وإنزيمات الأكسيداز والفسفاتاز والإنزيمات الحالة للبروتين (Proteolytic). وأخيراً، يمكن أن تحتوي الأنسجة المختلفة على نظائر إنزيمية مختلفة يمكن أن تختلف في مدى ألفتها تجاه الركائز.

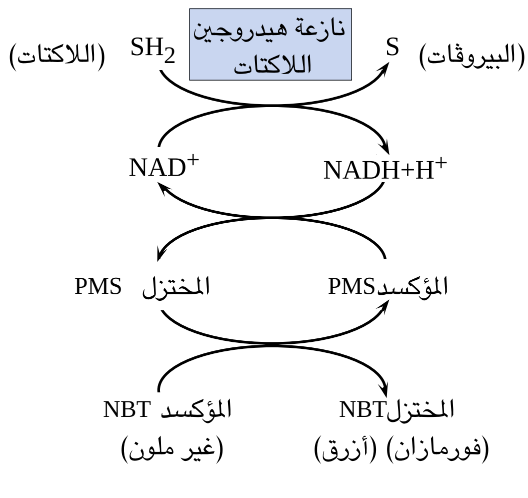
لفصل النظائر الإنزيمية وكشفها أهمية تشخيصيَة كبيرة:

بدأ الاهتمام الطبي بالنظائر الإنزيمية عندما تم اكتشاف أن المصل البشري يحتوي على عدة نظائر لنازعة الهيدروجين اللاكتاتية Lactate dehydrogenase "LDH" وأن نسبها تتغير بشكل ملحوظ في حالات مرضية معينة. وتم لاحقاً وصف العديد من الأمثلة على تغيرات نسب نظائر إنزيمية أخرى كنتيجة لأمراض معينة.

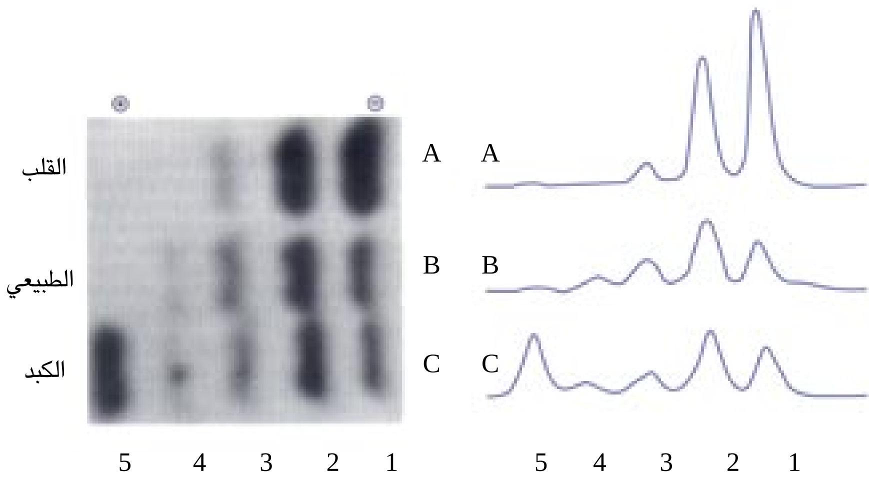
يمكن إظهار نظائر نازعة الهيدروجين اللاكتاتية في المصل بإخضاع المصل للرحلان الكهربي في درجة باهاء (pH) 8.6 مستخدمين النشاء أو الأجار أو عديد الأكريلاميد كداعم. تحمل هذه النظائر شحنات مختلفة عند هذه القيمة من الباهاء (pH) وتتحرك إلى خمس مناطق مختلفة من المخطط الرحلاني (Electropherogram) يمكن كشفها من خلال قابليتها لتحفيز اختزال كروموسومة وتغييرها من الشكل غير الملون إلى الشكل الملون غير الذواب.

يحتوي المزيج النموذجي لقياس نازعة هيدروجين على كل من الناد المؤكسد (NAD^+) والركيزة بشكلها المختزل (Reduced) والشكل المؤكسد من كروموسومة

الخزلدة (redox dye) كالـ NBT (تترازوليوم أزرق النترو Nitro blue tetrazolium) وحامل متوسط للإلكترونات لنقلها من الناد المختزل (NADH) إلى NBT والدارئة والأيونات المنشطة عندما تكون مطلوبة. ويبين الشكل 8-7 تطبيق هذه المقايسة لإظهار نظائر نازعة الهيدروجين اللاكتاتية (LDH) وتحديد كميتها في المصل في المختبرات السريرية. تُحفّز نازعة الهيدروجين اللاكتاتية نقل إلكترونين اثنين وبروتون واحد من اللاكتات إلى الناد المؤكسد (NAD^+) (الشكل 8-1)، التفاعل الذي لا يتم بمعدل قابل للقياس إلا بوجود الإنزيم LDH. وعندما ينشر مزيج المقايسة على مخطط الرحلان الكهربي ويحفظ في درجة الحرارة 37 درجة مئوية، فإن تفاعلات نقل الإلكترونات المعروفة تحدث فقط في تلك المناطق التي توجد فيها نازعة الهيدروجين اللاّكتاتية (الشكل 8-7). يمكن بعد ذلك إجراء التحديد الكمي للكثافات النسبية للأشرطة (Bands) الملونة باستخدام المقياس الضوئي التفرسي (Scanning photometer) (الشكل 8-8)، ويرمز للنظير الإنزيمي الأكثر سلبية بالرمز I1.



الشكل 8-7 : اقتران التفاعلات والكشف عن نشاط نازعة هيدروجين اللاكتات على مخطط الرحلان الكهربي.



الشكل 8-8 : النماذج السوية والباثولوجية للنظائر الإنزيمية لنازعة هيدروجين اللاكتات في المصل البشري. فصلت هذه النظائر المصلية على أسيتات السلولوز عند باهاء (pH) قيمتها 8.6 ، ثم لونت لكشف الإنزيم. وتظهر تفريسة مقياس الضوء المستويات النسبية للنظائر الإنزيمية. ويمثل النموذج A مصلاً مأخوذاً من مريض مصاب باحتشاء العضلة القلبية، و B مصلاً مأخوذاً من شخص سوي، و C مصلاً مأخوذاً من مريض مصاب بداء كبدي.

النظائر الإنزيمية هي نتاج لجينات مرتبطة بقوة:

يمكن أن توجد الإنزيمات قليلة المواحيد المكونة من قسيمات (Protomers) غير متشابهة بعدة أشكال. وعلى الأغلب يتم إنتاج أحد القسيمات بشكل غالب في أحد الأنسجة بينما يغلب إنتاج الأخرى في نسيج آخر؛ فإذا كان بإمكان هذه القسيمات الاتحاد بعدة طرق لتشكيل الإنزيم الفعّال (رباعي قسيمات مثلاً)، تتشكل النظائر الإنزيمية لتلك الفعالية التحفيزية. وفيما يلي توضيح لهذه الظاهرة مستخدمين كمثال عليها إنزيم LDH ذي الأهمية التشخيصية السريرية:

تختلف نظائر LDH عن بعضها على مستوى البنية الرابعية حيث يتألف جزيء الـ LDH (وزنه الجزيئي 130,000) من أربعة قسيمات من نوعين مختلفين هما القسيمة H والقسيمة M (يبلغ وزنها الجزيئي نحو 34,000). الفعالية الإنزيمية توجد فقط في الجزيء رباعي القسيمات، وإذا كان الترتيب غير مهم يمكن أن تتحد هذه القسيمات بالطرق الخمسة التالية:

MMMM ؛HMMM ؛HHMM ؛HHHM ؛HHHH

استخدم ماركرت (Markert) مجموعة من الظروف التي تؤدي إلى اضطراب البنية الرابعية وإعادة تشكلها لإيضاح العلاقة بين نظائر LDH الإنزيمية. ولم تؤد خلخلة البنية الرابعية وعود تشكلها بالنسبة لكل من النظيرين الإنزيميين I_1 و I_5 إلى إنتاج نظائر أخرى، بينما أدى إخضاع مزيجهما للمعاملة نفسها إلى تشكيل النظائر الإنزيمية I_2 و I_3 و I_4 لنازعة الهيدروجين اللاكتاتية. وبهذا نجد أن لنازعة الهيدروجين اللاكتاتية النظائر التالية وبجانبها القسيمات التي تتكون منها:

النظير	البنية
I_1	HHHH
I_2	HHHM
I_3	HHMM
1_4	HMMM
1_5	MMMM

ويتم التحكم بتصنيع القسيمتين H و M بواسطة مواقع مورثية مختلفة يختلف التعبير عنها بين نسيج وآخر (مثلاً بين القلب والعضلات الهيكلية).

للتحليل الكمي لبعض إنزيمات البلازما أهمية تشخيصية:

توجد بعض الإنزيمات والطلائع الإنزيمية (Proenzymes) أسلاف غير فعالة

للإنزيمات يتم تفعيلها بعمليات شطر نوعية حالة للبروتينات (انظر الفصلين 11 و 59) وركائزهما بشكل دائم في الدوران الدموي للأفراد الأصحاء حيث تقوم ببعض الوظائف الفيزيولوجية في الدم. وتتضمن الأمثلة على هذه الإنزيمات البلازمية الوظيفية (Functional plasma enzymes) كلاً من ليباز البروتين الشحمي والكولين إستراز الكاذبة وطلائع إنزيمات تخثر الدم وذوبان الجلطة الدموية. تصنع هذه الإنزيمات بشكل عام في الكبد ولكنها توجد في الدم بتراكيز مكافئة لتراكيزها في الأنسجة أو أكبر منها.

وكما تدل تسميتها، لا تقوم الإنزيمات البلازمية غير الوظيفية (Nonfunctional plasma enzymes) بأية وظيفة فيزيولوجية في الدم، ولا تحتوي البلازما على أي من ركائزها غالباً، ويكون تركيزها في دم الأفراد الأصحاء أقل بأكثر من مليون مرة منه في الأنسجة. ويدل ارتفاع تركيزها في الدم عن المقدار الطبيعي على زيادة معدل تخرب الأنسجة مما يعني أن قياس كميتها في البلازما يعطي الطبيب معلومات تشخيصية ومآلية قيمة. وتشمل الإنزيمات البلازمية غير الوظيفية تلك الموجودة في مفرغات الغدد خارجية الإفراز (Exocrine secretions) والإنزيمات داخل الخلوية الحقيقية (True intracellular). تنتشر الأولى (كالأميلاز والليباز البنكرياسية والفسفاتاز القلوية الصفراوية والفسفاتاز الحمضية البروستاتية) إلى البلازما، في حين تغيب الثانية من الدوران في الأحوال الطبيعية.

تنجم المستويات المنخفضة من الإنزيمات البلازمية غير الوظيفية عن تخرب الأنسجة في حدوده الطبيعية:

يعود وجود المستويات المنخفضة من الإنزيمات البلازمية غير الوظيفية في البلازما إلى التخرب الطبيعي الروتيني للكريات الحمراء والبيضاء وغيرها من الخلايا. ومع ازدياد معدل موت الخلايا، تدخل الإنزيمات الذوابة إلى الدوران. ومع أن ارتفاع مستوى هذه الإنزيمات يفسر غالباً على أساس نسبة النخر (Necrosis) الخلوي، لا يجب أن ننسى أن التمارين العنيفة تؤدي إلى تحرر كميات ملحوظة من إنزيمات العضلات.

تساعد الإنزيمات البلازمية غير الوظيفية على التشخيص ووضع المآل:

لقد مضى وقت طويل على استخدام الأطباء الممارسين لقياس مستويات بعض الإنزيمات البلازمية غير الوظيفية. ويجري الآن الحصول على هذه المعلومات التشخيصية والمآلية القيمة في معظم الحالات بواسطة أجهزة آلية تماماً. ويضم الجدول 8-3 قائمة بالإنزيمات البلازمية الأساسية المستخدمة في مجال علم الإنزيمات التشخيصي. وستجد في الملحق في آخر الكتاب مجال القيم السوية للإنزيمات الرئيسة المُستخدمة لأهداف تشخيصية.

تسهل نوكليازات الاقتطاع الداخلية (Restriction endonuclease) تشخيص الأمراض الوراثية:

لقد تلقى تشخيص الأمراض الوراثية دفعة كبيرة إلى الأمام بفضل تقنية الدنا (DNA) المأشوب. وفي حين أنه قد عرف منذ وقت طويل أن كافة الأمراض الجزيئية تنجم عن تغير الدنا (DNA)، لم تتوفر طرق الفحص المباشر لتسلسلات الدنا (DNA) إلا حديثاً. وقد قاد تطوير مسابير التهجين (Hybridization probes) الخاصة بشدف الدنا (DNA) إلى طرق ذات حساسية كافية لتقصي الاضطرابات الوراثية خلال الحياة الجنينية، وذلك بوضع خرائط لدنا (DNA)خلايا الجنين الموجودة في السائل السلوي (Amniotic fluid) باستخدام إنزيمات الاقتطاع الداخلية، أو بدراسة النواتج التي نحصل عليها باستخدام قلائل النوكليوتيدات كمشارع 1 (Primers) في تفاعل سلسلة البوليميراز (Polymerase chain reaction "PCR") (انظر الفصل 42).

من حيث المبدأ، يمكننا بناء مسابير الدنا (DNA)، لتشخيص معظم الأمراض الوراثية؛ فعلى سبيل المثال، ولكشف أمراض الثلاسيمية قبل الولاد (تتصف هذه الأمراض بعيوب في تركيب وحيدات الهيموجلوبين، انظر الفصل 7)، يبنى مسبار دنا (DNA) مقابل لجزء الجين الخاص بوحيدة الهيموجلوبين السوي لكشف شدفة الاقتطاع (Restriction fragment) القصيرة أو الغائبة الناجمة عن خبن (Deletion) في ذلك الجين كما يحدث في بعض حالات الثلاسيمية ألفا وبعض الأنماط النادرة

للثلاسيمية بيتا وجاما ودلتا. وبطريقة مغايرة، تم بناء مسبار صنعي للدنا المتمم (cDNA) يمكنه أن يتهجن (Hybridizes) مع تسلسل معين من الجلوبين بيتا يحتوي على طفرة هرائية (Nonsense mutation) موجودة في بعض حالات الثلاسيمية بيتا وليس في الجين السوي للجلوبين بيتا. ويترافق غياب ضد التربسين ألفا 1 (α_1-antitrypsin) بالنفاخ (Emphysema) وبتشمع كبدي طفولي. وقد اكتشف وجود ضد التربسين ألفا 1 بشكله غير الفعال بواسطة مسبار بني مقابلاً للأليل غير الفعال الذي يحتوي على طفرة نقطية في جين ضد التربسين ألفا 1.

الإنزيم	الاستعمال التشخيصي الرئيسي
ناقلات الأمين: ناقلة أمين الأسبارتات (AST) ناقلة أمين الألانين (ALT)	احتشاء العضلة القلبية التهاب الكبد الفيروسي
الأميلاز	التهاب البنكرياس الحاد
السيرولوبلازمين	التنكس الكبدي العدسي (داء ويلسون)
كيناز الكرياتينين	الأدواء العضلية واحتشاء العضلة القلبية
ناقل ببتيد الجاما جلوتاميل	أمراض كبدية مختلفة
نازعة هيدروجين اللاكتات (نظائره الإنزيمية)	احتشاء العضلة القلبية
الليباز	التهاب البنكرياس الحاد
الفسفاتاز الحمضية	سرطانة البروستاتة النقيلية
الفسفاتاز القلوية (نظائرها الإنزيمية)	اضطرابات عظمية مختلفة، أمراض الكبد الانسدادية

الجدول 8-3 : إنزيمات المصل الأساسية المستخدمة في التشخيص السريري. والكثير من هذه الإنزيمات غير نوعية للمرض المذكور مقابلها.

يمكن استخدام مسابير التهجين أيضاً في كشف التغيرات الوراثية التي تقود إلى فقد واحد أو أكثر من مقرات نوكلياز الاقتطاع الداخلي (Restriction endonuclease site) (انظر الفصل 42)؛ فعلى سبيل المثال، يمكن كشف الطفرة النقطية لرامزة الجلوتامين (GAG) التي تحولها إلى رامزة الڤالين (GTG) في جين الجلوبين بيتا (وهو ما يميز داء الخلية المنجلية) في الخلايا الموجودة في نحو 51 مل من السائل السلوي باستخدام نوكلياز الاقتطاع الداخلية MsII أو SauI.

يمكن لسبر نواتج الهضم بإنزيمات الاقتطاع الداخلية أن يظهر لنا الجينات المثلية (Homologous) التي تختلف في تسلسل أسسها الآزوتية:

يمكن أيضاً استخدام مسابير الدنا (DNA) لكشف تسلسلات الدنا (DNA) ذات العلاقة بالجين المعني ولكنها ليست ضمنه. ويمكن توسيع الدراسة لكشف الفوارق النوعية للصبغي (الفوارق في تسلسل النوكليوتيدات بين الكروموسومات المثليّة). ويولّد هضم دنا (DNA) الجينات المثلية الحاوية على تسلسلات مختلفة باستخدام أحد نوكليازات الاقتطاع الداخلي خرائط اقتطاع (Restriction maps) مختلفة (نماذج لشدف الدنا (DNA)) وتدعى هذه الظاهرة تعدد أشكال أطوال الشدف المقتطعة (Restriction fragment length polymorphism "RFLP"). فبالنسبة إلى مرض وراثي مرتبط بتعدد أشكال أطوال شدف الاقتطاع، سيحمل الشخص الحامل للمرض كروموسومياً واحداً بجين سوي وكروموسومياً آخر فيه الجين المعيب. وعندما تميز شدف الاقتطاع وتسبر، نلاحظ وجود شريطي(Bands) تهجين (يظهر شريط مفرد عندما يكون الجينان متماثلين)؛ ويبدي النسل الذي يرث الكروموسوم الحامل للمرض شريط تهجين مفرداً لكنه مختلف عن شريط الكروموسومات السوية. ولقد طبقت ظاهرة الرفلب (RFLP) المرتبط بالأمراض على دراسة خلة (Trait)الخلية المنجلية (بالاعتماد على Hpal-RFLP المرافق)، ودراسة الثلاسيمية بيتا (المرتبطة بالرفلب HindIII و BamHI).

لقد جرى تطوير تقص معتمد على الرفلبات (RFLPs) لكشف بيلة الفينيل كيتون

لدى الرضع (انظر الفصل 32). لاحظ هنا أن الرفلب (RFLP) لا يسبب حدوث المرض وهو فقط يتوضع قريباً من الجين المعني، لذلك فإن أسلوب التشخيص المذكور أعلاه لا يخلو من إمكانية الخطأ. وتعد الرفلبات نقاط انطلاق لكشف الجين المسؤول عن الأمراض المرتبطة بها. ولقد طبق هذا الأسلوب على تحري الطفرات المساهمة في تشكيل أورام أرومة الشبكية (Retinoblastoma) وداء هنتنجتون (Huntington's disease).

ويضم الفصل الثاني والأربعون أمثلة إضافية على استخدام إنزيمات الاقتطاع وتقنية الـ PCR في التشخيص.

أنماط الرنا (RNA) المحفزة:

على الرغم من أنها ليست بروتينات، تبدي بعض الأحماض الريبية النووية (الرنا (RNA)) نشاطاً محفزاً نوعياً تجاه الركيزة. تدعى هذه الأحماض بالإنزيمات الريباسية أو الريبوزيمات (Ribozymes)، وتنطبق عليها كافة المعايير التقليدية المستخدمة في تعريف الإنزيمات. ومع أن الركائز التي تعمل عليها هذه الإنزيمات مقتصرة على روابط فوسفوإيسترية (Phsphodiester) في الرنا (RNA)، فإن النوعية في تأثيرها تماثل تماماً لما نجده في الإنزيمات التقليدية. تقوم الريبوزيمات بتحفيز الأسترة المفروقة (Trans-esterification) لروابط في جزيئات الرنا (RNA) ثم حلمهتها. وتتيسر هذه التفاعلات بوجود مجموعات الهيدروكسيل الحرة، على ثمالات الجوانوزيل مثلاً. وللريبوزيمات دور أساسي في عمليات تضفير الإنترونات (Intron splicing) الضرورية لإنضاج طليعة الرنا المرسال (pre-mRNA) (انظر الفصل 39).

الخلاصة:

الإنزيمات هي محفزات بروتينية تنظم معدلات حدوث العمليات الفيزيولوجية. ونتيجة لذلك فإن العيوب التي تؤثر في وظيفة الإنزيمات تتسبب عادة في حدوث

المرض. وتتطلب الإنزيمات التي تحفز التفاعلات المساهمة في نقل المجموعات الوظيفية الكيميائية أو المصاوغة أو الأكسدة والإرجاع أو تركيب الروابط التساهمية ركيزة مساعدة تعرف باسم تميم الإنزيم. وبما أن الكثير من تمائم الإنزيمات هي من مشتقات الڤيتامينات B، لذلك يمكن أن يؤثر عوز الڤيتامينات تأثيراً سلبياً في وظيفة الإنزيمات، ومن ثم في الاستتباب. كما تحتوي العديد من تمائم الإنزيمات على النوكليوتيد AMP. وتكون معظم الإنزيمات ذات نوعية كبيرة تجاه ركائزها وتمائمها ونمط التفاعل الذي تحفزه. وفي حالة الإنزيمات التي تعمل على الركائز ذات الوزن الجزيئي المنخفض، يمكن أن تتفاعل مضاهئات الركائز أيضاً لكن معدّلات التفاعل تكون منخفضة على العموم.

يعد قياس نشاط الإنزيم حجر الزاوية في تحديد كمية الإنزيم خلال الأبحاث أو في المختبرات السريرية. ويقاس نشاط نازعات الهيدروجين المعتمدة على $NAD(P)^+$ بمقياس الطيف الضوئي، وذلك بقياس التغير في الامتصاص (عند الموجة 340 نم) الذي يرافق أكسدة أو اختزال $NAD(P)^+$ أو NAD(P)H. ويمكن أن ييسر قرن الإنزيمات الأخرى مع نازعات الهيدروجين عملية معايرتها. ولاستقصاء بنية الإنزيمات وآلية فعلها وكيفية تنظيم نشاطها، لا بد من تنقيتها حتى الوصول إلى تجانسٍ يزيد عن 95 ٪. وتشتمل طرق تنقية الإنزيمات على تقنية الترسيب الانتقائي بالأملاح أو بالمذيبات وتقنية الاستشراب على دعامات تبادل الأيونات أو الترشيح الهلامي أو ألفة الركائز أو لجائن الأصبغة أو التآثر الكاره للماء. لقد قادت القدرة على استخدام تكنولوجيا الدنا المأشوب للتعبير عن جينات الإنزيمات وتخليقها في أثوياء مألوفين إلى تطور عملية تنقية الإنزيمات، وذلك بتأمين كميات كبيرة من الإنزيمات يمكن تنقيتها بسهولة حتى التجانس في معظم الحالات. ويقيم مدى التقدم في التنقية عن طريق قياس الزيادة في النشاط النوعي للإنزيم (نشاطه لكل وحدة كتلية) ومدى تجانسه النهائي في الرحلان الكهربائي على هلامة عديد الأكريلاميد (PAGE) ويجري الاستدلال على التوضع الدقيق للإنزيمات داخل الخلايا بتقنيات الكيمياء النسيجيّة وتجزيء الخلايا المقرونة مع دراسة الإنزيمات في الشرحات النسيجية أو أجزاء الجناسة الخلوية.

نظائر الإنزيمات هي عبارة عن أشكال متميزة فيزيائياً للنشاط التحفيزي نفسه، وتوجد في كافة أشكال الحياة والأنسجة. وتبدي نظائر بعض الإنزيمات المصلية غير الوظيفية نماذجاً نوعية تشير إلى إصابة أنسجة بشرية محددة، وتعطي معلومات قيمة على صعيد التشخيص والمآل.

وأخيراً، تتيح قدرة نوكلِيازات الاقتطاع الداخلية على كشف التغيرات الخفية في بنية الجينات للأطباء تشخيص الأمراض الوراثية التي تؤدي فيها الطفرات إلى تشكل إنزيمات معيبة أو غير فعالة. وفي حين أن كل الإنزيمات تقريباً هي بروتينات، فإن أشكال الرنا المحفزة التي تعرف بالريبوزيمات تحفز حلمهة نوعية جداً لروابط فسفوإيستريّة في الرنا (RNA). وتكون لهذه التفاعلات أهمية كبيرة في الأحداث المساهمة في إنضاج طليعة الرنا المرسال.

*** References:**

Advances in Enzymology. Academic Press. [Annual publication].

Aitken A: *Identification of Protein Consensus Sequences: Active Site Motifs, Phosphorylation, and Posttranslational Modifications*. Horwood, 1990.

Bergmeyer H, Bergmeyer J, Grass M: *Methods of Enzymic Analysis*. Vol 11: Antigens and Antibodies. VCH Publishers, 1986.

Fersht A: *Enzyme Structure and Mechanisms*, 2 nd ed. Freeman, 1985.

Freifelder D: *Physical Biochemistry: Applications to Biochemistry and Molecular Biology*. Freeman, 1982.

Guan KL, Dixon JE: Eukaryotic proteins expressed in Escherichia coli: An improved thrombin cleavage and purification procedure of fusion proteins with glutathione S-transferase. *Anal Biochem* 1991;192:262.

Hoffmann A, Roeder RG: Purification of his-tagged proteins in non-denaturing conditions suggests a convenient method for protein interaction studies. *Nucleic Acids Res* 1991;19:6337.

Kaiser T, Lawrence DS, Rokita SZ: The chemical modifications of enzyme specificity. *Annu Rev Biochem* 1985;54:597.

Methods in Enzymology. Over 130 volumes, 1955-present. Academic Press.

Naqui A: Where are the asymptotes of Michaelis-Menten? *Trends Biochem Sci* 1986;11:64.

Scopes R: *Protein Purification: Principles and Practice*. Springer, 1982.

Suckling CJ: *Enzyme Chemistry*. Chapman & Hall, 1990.

Tijssen P: *Practice and Theory of Enzyme Immunoassays*. Elsevier, 1985.

Uhlenbeck OC: Catalytic RNAs. *Curr Opin Structural Biol* 1991;1:459.

الفصل التاسع

الإنزيمات: الحرائك

Enzymes: kinetics

مقدمة:

تشتق العديد من خصائص الحرائك الإنزيمية (Enzyme kinetics) من المفاهيم المرتبطة بحرائك التفاعلات الكيميائية غير المحفزة. بناء عليه، سنستعرض في هذا الفصل مفاهيم نظرية معدل التفاعل (Reaction rate) القابلة للتطبيق على التفاعلات الكيميائية بشكل عام أولاً، ثم ندرس العوامل الخاصة فقط بالتفاعلات المحفزة بالإنزيمات ثانياً.

الأهمية الطبية البيولوجية:

تكتسب كل العوامل التي تؤثر في معدلات التفاعلات المحفزة بالإنزيمات (تركيز الإنزيم والركيزة ودرجة الحرارة والباهاء (pH) ووجود المثبطات (Inhibitors)) مكانة هامة من الناحية الإكلينيكية. ويؤكد المبدأ البيولوجي الرئيسي للاستتباب على أن الصحة الجيدة تتطلب الاحتفاظ بتركيب الوسط الداخلي (Homeostasis) للجسم ضمن مجال ضيق وثابت نسبياً. هذا يعني أن الصحة الجيدة لا تتطلب حدوث المئات من التفاعلات المحفزة بالإنزيمات فقط، بل أن تتقدم بمعدلات فيزيولوجية مناسبة. وسيؤدي الخلل في تحقيق ذلك إلى اضطراب التوازن الاستتبابي للأنسجة داخل أجسامنا مع ما يحمله من نتائج عميقة الأثر. ويستدعي

هذا أن يفهم الطبيب كيفية تأثير الباهاء (pH) وتركيز الإنزيم والركيزة والمثبطات على معدلات التفاعلات المحفزة بالإنزيمات، وفيما يلي بعض الأمثلة التي توضح هذه الفكرة.

تتغير معدلات بعض التفاعلات المحفزة بالإنزيمات عند حدوث الانزياح الخفيف في الباهاء (pH) والمميز للحماض (Acidosis) والقلاء (Alkalosis) الأيضيين. وبما أن معدلات التحفيز الإنزيمي تزداد وتنقص كاستجابة للتموجات في درجة الحرارة، فإن من الطبيعي أن تفضي كل من الحمى وانخفاض الحرارة إلى اضطراب الاستتباب الداخلي نتيجة لتغييرها لمعدلات التفاعلات المحفزة بالإنزيمات. ومن ناحية أخرى، يمكن أن تفيد هذه التغيرات الخفيفة الطبيب والمريض؛ فعلى سبيل المثال، يمكن توظيف نقص نشاط الإنزيمات المرافق لانخفاض حرارة الجسم لإنقاص المتطلبات الأيضية بشكل عام خلال جراحات القلب المفتوح أو زرع الأعضاء.

من ناحية أخرى، تستفيد علوم السموم والأدوية من فهمنا للعوامل التي تؤثر في معدلات التفاعلات المحفزة بالإنزيمات، فالسموم الأيضية كالزئبق والمرخي العضلي الكوراري (Curare) وغازات الأعصاب كلها تبدي تأثيرها السمي عن طريق تثبيط الإنزيمات مما ينجم عنه إبطاء بعض العمليات الأيضية أو إيقافها تماماً.

أخيراً، إن العديد من الأدوية العلاجية الهامة تنقص معدلات التفاعلات الأيضية عن طريق منافسة الركائز الطبيعية لإنزيم أيضي مفتاحي. تتشابه هذه الأدوية غالباً مع الركائز الطبيعية مثل اللوڤاستاتين (Lovastatin) والزيدوڤودين (Zidovudine "AZT") المستخدمين في علاج فرط كوليسترول الدم والإيدز، على الترتيب. كلاهما يبدي تأثيره العلاجي عن طريق تخفيض معدلات التفاعلات المحفزة بالإنزيمات.

تحدد تغيرات الطاقة الحرة (Free energy) اتجاه التفاعل الكيميائي وحالة توازنه (Equilibrium state):

التفاعلات الكيميائية عكسية (Reversible) بطبيعتها، فإذا كان من الممكن أن يتفاعل جزيء من المادة A مع آخر من المادة B ليشكلا أنواعاً أخرى من الجزيئات

الكيميائية (P و Q) كما يلي:

$$A + B \longrightarrow P + Q$$

فإن التفاعل العكسى ممكن أيضاً:

$$P + Q \longrightarrow A + B$$

نميل عادة لتمثيل التفاعلات الكيميائية بالشكل المكتوب أعلاه (وكأنها «غير عكسية») عندما تدعم العوامل الثرموديناميكية (Thermodynamic) التي تقود هذه التفاعلات بقوة تشكل المنتجات (أي المركبات التي يشير إليها السهم الأول). ضمن هذه الظروف، ستتحول كل المواد المتفاعلة إلى المنتجات عند تمام التفاعل. وفي حين يبقى العكس ممكناً، إلا أنه يحدث بمعدل صغير جداً لدرجة يمكن أن تهمل معها مساهمته في مجمل التفاعل. ومع ذلك، تحتفظ مساهمة عكس التفاعل في العديد من التفاعلات (ومن بينها تفاعلات تحدث في الخلية الحية) بأهمية بالغة يجب أخذها بعين الاعتبار. ويمكن الاستدلال على ذلك بكتابة التفاعل ورسم سهم مضاعف بالاتجاهين:

$$A + B \rightleftharpoons P + Q$$

إن التغير في الطاقة الحرة (free energy "ΔG") هو القوة الثرموديناميكية المُوَجِّهة التي تحدد الاتجاه الذي يتقدم التفاعل نحوه وتراكيز المتفاعلات والنواتج عند تمام التفاعل، أي عند الوصول إلى حالة التوازن (Equilibrium state) ويمثل التغير في الطاقة الحرة (غالباً ما يسمى الطاقة الحرة للتبسيط) الفرق بين مجموع الطاقات الحرة للمركبات الكيميائية على يمين السهم (أي المنتجات) ومجموع الطاقات الحرة للمركبات الكيميائية على يسار السهم (أي المتفاعلات أو الركائز). وعندما تقاس الطاقة الحرة في الشروط القياسية (Standard) (الفصل 12) فإنها تعطى الرمز ΔG^0. فإذا كانت الطاقة الحرة لنواتج التفاعل أخفض من تلك الخاصة بالمتفاعلات، فإن قيمة ΔG^0. ستكون سلبية وسيميل التفاعل للتقدم كما هو مكتوب (أي من اليسار إلى اليمين). أما إلى أي حد سيبقى فيه التفاعل في هذا الاتجاه قبل بلوغ حالة التوازن فهو ما تحدده إشارة تغير الطاقة الحرة ومقدارها. ويرتبط تغير

الطاقة الحرة بثابتة التوازن (Equilibrium constant "*K*eq") لتفاعل ما بالعلاقة التالية:

$$\Delta G^0 = - RT \ In \ Keq$$

حيث أن R وهي ثابتة الغاز، أما T فهي درجة الحرارة المطلقة.

وبالتطبيق على التفاعل المذكور أعلاه، نجد:

$$Keq = \frac{[P]\,[Q]}{[A]\,[B]}$$

تسمح هذه العلاقات لنا بحساب قيمة ΔG^0 من خلال قياس التراكيز النسبية للمتفاعلات والنواتج بعد بلوغ التوازن؛ فإذا كانت سلبية، فإن ثابتة التوازن ستكون أكبر من القيمة 1، دالّة على أن تركيز المنتجات أكبر من تركيز المتفاعلات في حالة التوازن. أم القيمة الإيجابية لـ ΔG^0 فتعني أن ثابتة التوازن ستكون أقل من 1 وأن التفاعل سيسير باتجاه تراكم المتفاعلات.

لاحظ أنه بينما تدلنا قيم كل من ΔG^0و *K*eq إلى الاتجاه العفوي أو التلقائي (Spontaneous) للتفاعل، فهي لا تعطينا أية معلومات عن سرعة التفاعل. ذلك لأن تلقائي الطاقة الحرة للتفاعل الإجمالي تتعلق بالحالة الأولية والنهائية للأنواع المتفاعلة فقط. ولذلك، يكون ΔG^0 مستقلاً عن آلية التفاعلات ولا يعطي أية معلومات حول معدلاتها. وبكلمات أخرى، يمكن أن يكون للتفاعل ΔG^0 تؤيد حدوثه بقوة لكنه يحدث بمعدل بطيء.

تمر التفاعلات بحالات انتقالية:

يعد مفهوم الحالات الانتقالية (Transition states) أساسياً لفهم التحفيز بمختلف أشكاله بما فيها الإنزيمي؛ فلندرس، على سبيل المثال، تفاعل إزاحة (Displacement) تزيح فيه المجموعة الداخلة E المجموعة المغادرة (L) والمرتبطة أصلاً بالمجموعة R:

$$E + R - L \rightleftharpoons E - R + L$$

تتضمن الإزاحة فعليا حالة انتقالية (E..R..L) يمكن تمثيل تشكلها وتفككها اللاحق «بتفاعلين جزئيين» يترافق كل منهما بتغير مميز في الطاقة الحرة:

$$E + R - L \rightleftharpoons E\ R\ L \quad \Delta G_F$$

$$E\ R\ L \rightleftharpoons E - R + L \quad \Delta G_D$$

يمثل ΔG_F و ΔG_D التغيرات في الطاقة الحرة المرافقة لتشكل الحالة الانتقالية وتفككها على الترتيب. وتكون ΔG_D، وهي التغير في الطاقة الحرة المرافقة للتفاعل الإجمالي، معادلة لمجموع الطاقات الحرة لتشكل الحالة الانتقالية وتفككها:

$$\Delta G = \Delta G_F + \Delta G_D$$

كما هو الأمر بالنسبة إلى أي معادلة ذات حدين، ليس من الممكن الاستدلال على إشارة ΔG_F أو ΔG_D أو مقدارها من خلال معرفتنا للإشارة الجبرية والمقدار الجبري لـ ΔG. وبكلمات أخرى، لسنا قادرين على الاستدلال على أي من المعلومات المتعلّقة بتغيرات الطاقة الحرة المرافقة لتشكل الحالات الانتقالية وتفككها من خلال معرفتنا لتغيرِ الطاقة الحرة للتفاعل الإجمالي (G).

تشمل التفاعلات الأكثر تعقيداً عدة حالات انتقالية متتالية، وتتضمن سلسلة من التفاعلات الجزئية يترافق كل منها مع تغير خاص في الطاقة الحرة. ومن المهم ملاحظة أن التغير في الطاقة الحرة للتفاعل الإجمالي (ΔG) مستقل عن عدد أو نمط الحالات الانتقالية. والدلالة على ذلك هي حقيقة أن هي المحصلة الجبرية لتغيرات الطاقة الحرة لكل من التفاعلات الجزئية المساهمة.

تؤثر عوامل عديدة في معدل التفاعل:

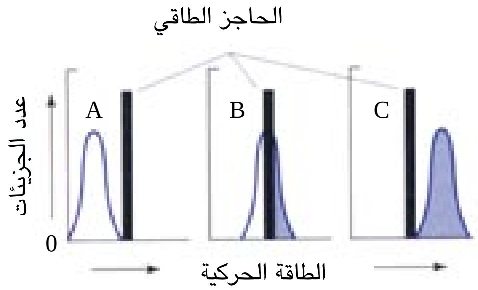
تجمع النظرية الحركية (Kinetic) أو نظرية التصادم (Collision) في الحرائك الكيميائية مفهومين رئيسين:

1- لا يمكن للجزيئات أن تتفاعل إلا إذا تصادمت، أي أن تصبح المسافة بينها ضمن مجال مسافة تشكيل الرابطة.

2 – لكل تفاعل كيميائي حاجز (حائل) طاقي (Energy barrier) يجب التغلب عليه لحدوث التفاعل. وحتى يؤدي التصادم إلى تفاعل، يجب أن تملك الجزئيات المتفاعلة طاقة كافية للتغلب على الحائل الطاقي هذا. وهكذا، فإن العوامل التي تزيد الطاقة الحركية للجزئيات المتفاعلة أو تنقص حائل الطاقة الخاص بالتفاعل أو تزيد تواتر التصادم، يجب أن تزيد معدل التفاعل.

درجة الحرارة:

يؤدي رفع درجة الحرارة إلى زيادة عدد الجزيئات التي يمكن أن تتفاعل لأنه يزيد من طاقتها الحركية (Kinetic energy) ومن تواتر تصادمها. وكما هو مبين في (الشكل 9-1)، يزداد عدد الجزيئات التي تتجاوز طاقتها الحركية حاجز الطاقة الخاص بالتفاعل (الخط العمودي) بارتفاع الحرارة من الدرجة المنخفضة (A) إلى المتوسطة (B) إلى العالية (C). كما أن أي ارتفاع في درجة الحرارة يزيد حركة الجزيئات، ومن ثم يزيد تواتر التصادم. وتساهم هذه العوامل معاً في زيادة معدل التفاعل الملاحظ عند زيادة درجة الحرارة؛ ولكن لا تستمر هذه الزيادة في معدل التفاعل إلى اللانهاية لأن درجة الحرارة تصل إلى قيمة تصبح عندها الجزيئات المتفاعلة غير مستقرة. هذا التحديد الحراري يميل إلى أن يكون مرتفعاً بشكل مفرط بالنسبة للمتفاعلات غير العضوية، وبشكل معتدل بالنسبة إلى معظم الجزيئات العضوية، لكنه يكون أقل من 100 درجة مئوية بالنسبة إلى معظم التفاعلات ذات الأهمية البيولوجية.



الشكل 9-1 : حاجز (حائل) الطاقة في التفاعلات الكيميائية.

تركيز المتفاعلات:

عند التراكيز المرتفعة للمتفاعلات، يكون كل من عدد الجزيئات ذات الطاقة الكافية للتفاعل وتواتر تصادمها مرتفعاً؛ ويبقى هذا صحيحاً سواء أكانت كل الجزيئات أو قسم منها يمتلك طاقة كافية للتفاعل. ولندرس التفاعلات التي تشمل جزيئين مختلفين A و B:

$$A + B \longrightarrow AB$$

فإذا ضاعفنا تركيز A أو B، يتضاعف معدل التفاعل؛ وعند مضاعفة تركيز كل من A و B يزداد احتمال التصادم أربع مرات. ويكون معدل التفاعل متناسباً مع تراكيز الجزيئات المتفاعلة. وتستخدم أقواس مربعة للإشارة إلى التراكيز الجزيئية[1] (Molar concentration)؛ ويعني الرمز α «متناسب مع». ويعبر عن معدل التفاعل كما يلي:

المعدل α [الجزيئات المتفاعلة]

أو

المعدل α [A][B]

1 – يجب استخدام النشاط المولى وليس التركيز الجزيئي.

وبالنسبة للحالة الممثلة بالمعادلة:

$$A + 2B \longrightarrow AB_2$$

يكون التعبير عن المعدل (Rate) كما يلي:

$$Rate \quad \alpha \quad [A]\,[B]\,[B]$$

أو

$$Rate \quad \alpha \quad [A]\,[B]^2$$

وبالنسبة للحالة العامة عندما يتفاعل n جزيء من A مع m جزيء من B:

$$nA + mB \longrightarrow A_n B_m$$

يكون التعبير عن المعدل كما يلي:

$$Rate \ \alpha \quad [A]^n\,[B]^m$$

ثابتة التوازن K_{eq} هي النسبة بين ثوابت المعدل:

بما أن كافة التفاعلات الكيميائية عكسية، ففي عكس التفاعل السابق يتحول A_nB_m ليعطي مقدار n جزيء من A و m جزيء من B:

$$A_nB_m \longrightarrow nA + mB$$

ويكون التعبير المناسب عن المعدل كما يلي:

$$Rate \ \alpha \quad [A_n\,B_m]$$

وتمثل العكوسية بأسهم مضاعفة:

$$nA + mB \rightleftharpoons A_n\,B_m$$

وتقرأ هذه المعادلة كما يلي: «يكون n جزيء من A و m جزيء من B في حالة توازن مع A_nB_m». ويمكن استبدال التعبير «متناسب مع» أو رمزه "α" بعلامة مساواة، وذلك بإدخال ثابتة التناسب (k) الخاصة بالتفاعل المدروس. وفي الحالة العامة:

$$nA + mB \rightleftharpoons A_n B_m$$

يكون التعبير عن كل من معدل التفاعل بالاتجاه الأول (من اليسار لليمين أو المعدل $_1$ ($Rate_1$) ومعدل التفاعل العكسي (المعدل $_{-1}$) كما يلي:

$$Rate_1 = K_1 [A]^n[B]^m$$

و:

$$Rate_{-1} = K_{-1} [A_nB_m]$$

وعندما يكون معدلا التفاعلين في الاتجاهين متساويين يقال إن الجملة أصبحت في حالة توازن (Equilibrium)، أي:

$$Rate_1 = Rate_{-1}$$

هذا يعني أن:

$$k_1 [A]^n[B]^m = k_{-1} [A_nB_m]$$

وبالتالي:

$$\frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{[A_nB_m]}{[A]^n[B]^m} = k_{eq}$$

تدعى النسبة k_1 إلى k_{-1} ثابتة التوازن (k_{eq}). وينبغي أن نبقي في ذاكرتنا الخصائص الهامة التالية للجملة الموجودة في حالة التوازن:

1- ثابتة التوازن هي نسبة ثابتتي التفاعل K_1/k_{-1}.

2- عند التوازن، يكون معدلا التفاعلين (وليس ثابتتي معدل التفاعل) متساويين.

3 - التوازن هو حالة ديناميكية. ومع أنه لا يحدث تغير في تركيز المتفاعلات أو النواتج عند التوازن، يستمر A وB بالتحول إلى A_nM_m والعكس بالعكس.

4 - يمكن أن تعطى ثابتة التوازن قيمة عددية، إذا كانت تراكيز A و B و A_nB_m معروفة عند حدوث التوازن.

حرائك التّحفيز الإنزيمي:

تخلق الإنزيماتُ حالات انتقالية بديلة:

تكون الحالات الانتقالية المشكلة بين الإنزيمات والركائز في الحالات النموذجية عند مستويات طاقية أقل بشكل ملحوظ منها في الحالات الانتقالية المتشكلة عندما يتقدم التفاعل نفسه بغياب التحفيز الإنزيمي. وبذلك يكون العامل الرئيس المساهم في قدرة إنزيم ما على تسريع معدل تفاعل معين هو ΔG_F أن الخاص بتشكيل الحالة الانتقالية للمركب ركيزة ـ إنزيم أقل بشكل ملحوظ من ΔG_F الخاص بالتفاعل نفسه بغياب الإنزيم. وبكلمة أخرى، تنقص الإنزيمات حاجز الطاقة الخاص بالتفاعل، ونتيجة لذلك تكبر نسبة جزيئات الركيزة القادرة على التفاعل.

تنقص الإنزيمات الحاجز الطاقي للتفاعل، لكنها لا تؤثر في ثابتة التوازن K_{eq}:

في حين يؤثر الإنزيم في ΔG_F من خلال مساهمته الديناميكية في التفاعلات التي يحفزها (انظر لاحقاً)، لكنه ـ ككل المحفزات ـ يخرج من دون أي تغيير عند تمام التفاعل. هذا يعني أنه ليس لوجود الإنزيم أي تأثير في ΔG^0 الخاصة بالتفاعل الإجمالي، والذي يتعلق فقط بالحالة الأولية والنهائية للمواد المشاركة بالتفاعل. وبما أن ثابتة التوازن في التفاعل الكيميائي تتعلق بتغير الطاقة الحرة المعياري القياسي

الخاص بالتفاعل:

$$\Delta G^0 = RT \text{ in } K_{eq}$$

فإن ذلك يعني ألا تؤثر الإنزيمات والمحفزات الأخرى في اتجاه التفاعل الكيميائي ولا تغير ثابتة توازنه. وبطريقة أخرى، وإذا حاولنا أن نشمل وجود إنزيم في حسابنا لثابتة توازن التفاعل التالي:

$$A + B + Enz \rightleftharpoons P + Q + Enz$$

فيكون التعبير عن ثابتة التوازن كما يلي:

$$K_{eq} = \frac{[P]\,[Q]\,[Enz]}{[P]\,[B]\,[Enz]}$$

وبحذف تركيز الإنزيم من الصورة (البسط) والمخرج (المقام)، يتحول هذا التعبير مباشرة إلى ما يتناسب مع التفاعل المماثل الذي يحدث بغياب الإنزيم:

$$K_{eq} = \frac{[P]\,[Q]}{[P]\,[B]}$$

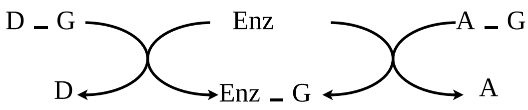
تحفز الإنزيمات تشكيل الروابط التساهمية أو تفكيكها:

بالنسبة لتفاعلات نقل المجموعات الممثل بالمعادلة التالية:

$$D + G + A \rightleftharpoons A - G + D$$

تنقل المجموعة G من المركب المانح D-G إلى المتقبل A. ويتضمن التفاعل الكلي تفكك الرابطة D-G وتشكيل الرابطة الجديدة A-G.

يمكن تمثيل تفاعلات نقل المجموعات المحفزة إنزيمياً كما يلي:



يؤكد هذا ثلاث خصائص هامة لتفاعلات نقل المجموعات المحفزة إنزيمياً وهي:

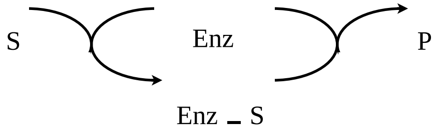
1– يشمل كل تفاعل جزئي تفكيك رابطة تساهمية وتشكيلها.

2 – الإنزيم هو متفاعل مثله مثل D ـG و A.

3– في حين يعمل الإنزيم في التفاعل الإجمالي محفزاً (أي يكون ضرورياً بكميات زهيدة فقط، ويمكن أن يكشف بدون تغيير عند تمام التفاعل)، فإنه في التفاعل الجزئي يكون متفاعلاً بشكل رياضي (Stoichiometric) أي يكون ضرورياً بالنسبة المولية 1: 1 مع المتفاعلات الأخرى). وبالنسبة إلى هذا النمط من التحفيز، يجري تسريع معدل التفاعل بتأمين عملية بديلة ذات خطوتين، تبدي حالاتها الانتقالية قيماً لـ أقل بكثير مما هو الأمر في حالة النقل التصادمي ذي المرحلة الواحدة الذي يحدث في غياب الإنزيم.

يمكن للكثير من التفاعلات الكيميائية الحيوية الأخرى أن تعتبر كحالات خاصة من تفاعلات نقل المجموعات يغيب فيها المركب D أو المركب A أو كليهما.

فعلى سبيل المثال، يمكن تمثيل تفاعلات المصاوغة (كالتحول البيني للجلوكوز –6– فسفات والجلوكوز –1– فسفات) بشكل تفاعلات يكون فيها كل من D و A غائباً:



تزيد الإنزيمات تقارب المتفاعلات وتركيزها الموضعي:

حتى يتم أي تفاعل من التفاعلات المذكورة آنفاً، يجب أن تقترب المتفاعلات من بعضها إلى المسافة التي تسمح بتشكيل الروابط (أو تبتعد إلى مسافة تفكيك الروابط). من ناحية أخرى، تكون تراكيز الجزيئات المتفاعلة في المحاليل المتجانسة بغياب المحفزات متساوية في كامل المحلول، لكن إضافة المحفز تغير من هذا الوضع. فالمحفزات تحتوي على حقول سطحية تربط الجزيئات المتفاعلة؛ ومع أن هذا الارتباط هو عملية عكوسة، غير أن ثابتة التوازن الإجمالية لهذا الارتباط تدعم بقوة وجود المتفاعلات المرتبطة مع المحفز أكثر بكثير من وجود أشكالها الحرة. ويمكن أن نمثل ذلك من الناحية الكيفية كما يلي:

متفاعل + محفز $\rightleftharpoons$ مركب المتفاعل ـ المحفز

أما من الناحية الكمية، فيمكننا التعبير عن متانة الارتباط بين المتفاعل R والمحفز C بواسطة ثابتة التفارق K_d للمركب R-C، أو بثابتة توازن التفاعل:

$$R - C \rightleftharpoons R + C$$

$$K_d = \frac{[R][C]}{[R - C]}$$

هذا يعني أن قيمة K_d المنخفضة تمثل متانة عالية لارتباط المتفاعل بالمحفز (يكون المركب R-C متيناً).

ومن النتائج الهامة لذلك أنه عندما يرتبط المتفاعل مع المحفز يزداد تركيز المتفاعل في منطقة محددة من المحلول أكثر من تركيزه في المحلول الحر. وهكذا، لم نعد نتعامل بعد ذلك مع كيمياء المحلول المتجانس، بل مع كيمياء المحلول المتغاير (Heterogenous).

عندما يربط محفز لتفاعل يتم بين متفاعلين كلا المتفاعلين، يزداد التركيز الموضعي لكل متفاعل بنسبة تعتمد على ألفته (قيمة K_d) تجاه المحفز. وبما أن معدل

التفاعل الكلي بين الجزيئين:

$$A + B \longrightarrow A - B$$

يتناسب ـ كما رأينا سابقاً ـ مع تركيز كل من A وB فإن ارتباط كل من A و B بالمحفز يمكن أن يؤدي إلى زيادة هائلة (آلاف الأضعاف) في معدل التفاعل الإجمالي.

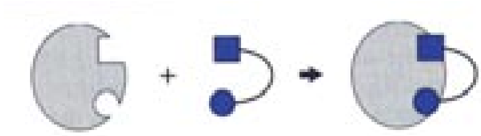
يحدث التحفيز عند المقر الفعال:

إن الخاصية الرئيسية للإنزيمات هي قدرتها على ربط المتفاعلات مما يزيد من التركيز الموضعي للمتفاعلات ومعدل التفاعل الموضعي. وتتصف الإنزيمات بأنها محفزات فعالة للغاية وانتقائية بشدة. ولفهم هذه الخصائص المتميزة للإنزيمات يجب إدخال مفهوم المقر «الفعال» "Active" أو «التحفيزي» "Catalytic".

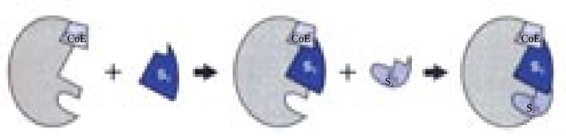
وقد قاد الحجم الكبير للبروتينات نسبة إلى الركائز إلى مفهوم مفاده أن هناك منطقة محددة من الإنزيم، أي «المقر الفعال»، تكون معنية بالتحفيز. وقد كان من غير الواضح في البداية سبب كبر الإنزيمات الشديد رغم أن جزءا من بنيتها فقط يكون لازماً لربط الركيزة والتحفيز. أما اليوم، فأصبح معروفاً أن جزءاً من البروتين أكبر بكثير مما كان يعتقد سابقاً يتآثر مع الركيزة. وعندما تزداد الحاجة للمقرات التفارغية من الحجم نفسه، يجب ألا ندهش لحجم الإنزيمات.

يفسر نموذج المقر التحفيزي الصلب الكثير من خواص الإنزيمات:

لقد شبه نموذج المقر التحفيزي الذي افترضه إميل فيشر التآثر بين الركيزة والإنزيم بالعلاقة بين «القفل والمفتاح»؛ وما يزال نموذج القفل والمفتاح هذا أو نموذج المرصاف الصلب (Rigid template model) (الشكل 9-2) مفيداً لفهم بعض خصائص الإنزيمات كالارتباط الترتيبي لركيزتين أو أكثر (الشكل 9-3) وحرائك منحنى تشبع الركيزة البسيط.



الشكل 9-2 : تمثيل لتشكل المعقد إنزيم ـ ركيزة حسب فرضية المرصاف لفيشر.



الشكل 9-3 : تمثيل الامتزاز المتتابع لتميم إنزيمي (CoE) وركيزتين (S_1 و S_2) إلى إنزيم حسب فرضية المِرصاف. ويفترض أن يحمل تميم الإنزيم مجموعة ضرورية لربط الركيزة الأولى S_1 التي تيسر بدورها ربط S_2.

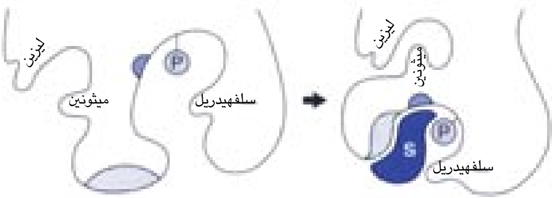
تحرض الركائز تغيرات في هيئة الإنزيمات:

في حين فسر نموذج فيشر نوعية التآثرات بين الإنزيمات والركائز بسهولة، فإن الصلابة المومأ إليها في المقر الفعال للإنزيم أخفقت في تفسير التغيرات الديناميكية التي يجب أن تحدث خلال التحفيز. والنموذج الذي يشرح كلاً من هذه الأوجه من التّحفيز الإنزيمي هو نموذج التلاؤم المحرض لكوشلاند (Induced fit model of Koshland). ففي نموذج فيشر يفترض أن المقر التحفيزي يتشكل مسبقاً ليلائم الركيزة؛ أما في نموذج التلاؤم المحرض، فإن الركيزة تحرض تغيراً في هيئة الإنزيم بطريقة مماثلة لما يحدث من تغير في القفاز عند ارتدائه؛ وهذا يؤدي إلى تراصف

ثمالات الأحماض الأمينية أو المجموعات الأخرى في الإنزيم بتوجه فراغي مناسب لارتباط الركيزة أو تحفيزها أو كليهما؛ ويحرض الإنزيم بدوره تغيرات مقابلة في ركائزه تؤدي إلى تبديل توجهها وهيئاتها إلى الحالة الانتقالية، وبذلك يستخدم طاقة الارتباط الداخلية التي تتاح بفعل التآثر بين الركيزة والإنزيم لإنقاص ΔG_F.

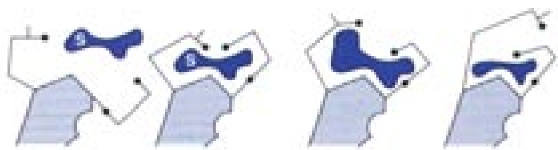
وفي المثال الذي يعرضه (الشكل 9-4)، تساهم المجموعات الكارهة للماء والمجموعات المشحونة (المرقَّطة) كلاهما في ارتباط الركيزة، ويساهم الفُسْفوسيرين (Phosphoserine) (-P) ومجموعة السلفهدريل لثمالة السيستين في التّحفيز؛ ومُثِّلَت الثمالات الأخرى غير المساهمة في أي من العمليتين بثمالات الليزين (Lys) والميثيونين (Met).

في غياب الركيزة، تكون المجموعات المحفزة والرابطة للركيزة متباعدة عن بعضها بعضاً بعدة مسافات للروابط. ويحرض اقتراب الركيزة حدوث تغير في هيئة بروتين الإنزيم يؤدي إلى تراصف المجموعات بشكل مناسب لارتباط الركيزة والتحفيز. وفي الوقت نفسه، يتغير التوجيه الفراغي (Spatial orientation) للمناطق الأخرى أيضاً، حيث تصبح المسافة بين الليزين والميثيونين أقصر (الشكل 9-4).



الشكل 9-4 : تمثيل ثنائي البعد للتلاؤم المحرض بفعل تغير بنيوي في هيئة البروتين.لاحظ المواضع النسبية للثمالات الرئيسة قبل ارتباط الركيزة وبعده.

يمكن لمضاهئات الركائز أن تحدث بعض التغيرات الصحيحة في هيئة الإنزيم، لكن ليس كلها (الشكل 9-5). فعند ارتباط الركيزة الحقيقية (A)، تصبح كافة المجموعات (الدوائر المغلقة السوداء) في حالة تراصف صحيح. أما ارتباط مضاهئ الركيزة، الذي يكون كبير الكتلة (الشكل 9-5 ب) أو صغيراً جداً (الشكل 9-5 جـ)، فيؤدي إلى تحريض تراصف غير صحيح. أما الخاصة الأخيرة فهي المقر الذي يبدو بشكل ثلمة صغيرة في الأيمن ويمكن أن يرتبط به جزيء ناظم يسحب أحد ذراعي عديد الببتيد الذي يحمل مجموعة محفزة. قد يسمح هذا بارتباط الركيزة ولكن بدون حدوث التحفيز. وكما هو واضح في نموذج التلاؤم المحرض، يمكن للثمالات المكونة للمقر المحفز أن تكون بعيدة بعضها عن بعض في البنية الأولية لكنها قريبة فراغياً في البنية ثلاثية الأبعاد (الثالثية).



الشكل 9-5 : تمثيل للتغيرات في هيئة بروتين إنزيمي عند ارتباط الركيزة (A) أو مضاهئاتها غير الفعالة (B، C).

تساهم عدة ثمالات أمينوأسيل في تشكيل المقر الفعّال:

ما هي أجزاء الإنزيم التي تساهم في مقره الفعال، وتشكل أجزاء منه؟ إن أفضل إجابة عن هذا السؤال تأتي من تفحص البنية ثلاثية الأبعاد للمركب الثالثي (Ternary) (ثلاثة المكونات) المتشكل بين الإنزيم وركيزتيه. ولكن وجود الركائز سيؤدي إلى حدوث التحفيز (حتى في حالة التبلور) مما يعقد تفسير المعطيات. ولذلك ثبت أنه من المفيد تفحص بنية ما يسمى المركبات المجهضة المكونة من ركيزة

واحدة وناتج واحد أو من الإنزيم والركيزة ومضاهئ مثبط. وتؤمن هذه المركبات، والتي لا يمكن أن تخضع للتقلب، شبيهاً للمقر الفعال خلال الخطوة الأولية من التحفيز ألا وهي ارتباط الركيزة. وتُظهر هذه الدراسات أن عدداً من ثمالات الأمينوأسيل يكون على تماس مع الركائز المرتبطة أو التمائم الإنزيمية المرتبطة، ومن ثمَّ فهي تشكل جزءاً من المقر الفعَّال.

يملي القد الموسع والخاصية ثلاثية الأبعاد للمقرات الفعالة ظهورها بالشكل الأمثل على شاشات الحاسوب باستخدام برامج حاسوبية تسمح بتدوير البنية في كافة الاتجاهات وتصغير وتكبير الأجزاء المعنية وإظهار البنية بأبعادها الثلاثة. ولا تسمح حدود الصفحة المطبوعة برسم كامل للمقرات الفعالة؛ ولكن يمكن تسجيلُ بعض حالات التعميم.

غالباً ما تتوضع المقراتُ الفعالة في الفلوح (Clefts):

غالباً ما يستقر المقر الفعال، بالنسبة للإنزيمات التي تتألف من وحيدة مفردة، في فلح في الإنزيم. ومن الأمثلة على ذلك الليزوزيم (Lysozyme) الموجود في الدمع ومخاط الأنف ويقوم بحل الجدر الخلوية للكثير من الجراثيم إيجابية الجرام المحمولة بالهواء. ويضم الليزوزيم، وهو سلسلة ببتيدية مكونة من 129 ثمالة، فلحاً مركزياً عميقاً يؤوي مقراً تحفيزياً مؤلفاً من 6 مقرات فرعية (Subsites) (الشكل 9-6) تربط الركائز المختلفة. وتتوضع الثمالات المسؤولة عن شطر الروابط بين المقرين D و E قريباً من مجموعات الكربوكسيل للأسباراجين 52 والجلوتامين 53. يضيف هذا الأخير بروتوناً للرابط الأسيتالي (Acetal bond) للركيزة، في حين يقوم الأسباراجين 52 ذو الشحنة السلبية بالمحافظة على استقرار أيون الكربونيوم الناتج من الجهة الخلفية.

كما يتوضع المقر التحفيزي للريبونوكلياز ضمن فلح مماثل للفلح في الليزوزيم، وتتوضع بشكل مصالب له ثمالتا الهيستيدين 12 والهيستيدين 119 اللتان تقعان عند المقر التحفيزي كما تشير الدلالات الكيميائية.



الشكل 9-6 : تمثيل ثنائي البعد للمقر التحفيزي في منطقة الفلح من الليزوزيم. تمثل الحروف A حتى F جزيئات الجليكوزيل من سكريد سداسي، وتظهر بعض الثمالات في منطقة الفلح مع أرقامها في متوالية الليزوزيم.

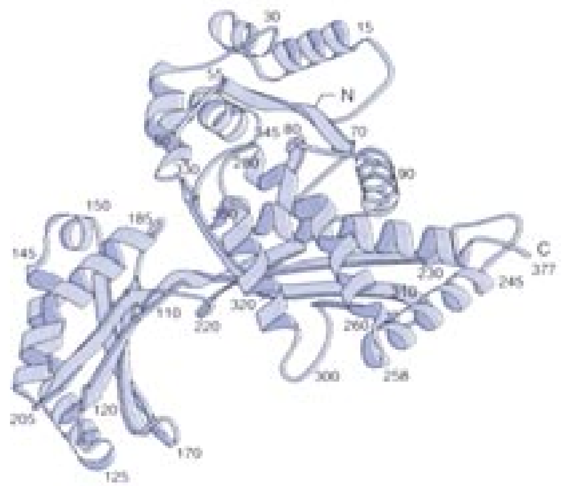
يمكن أن تتوضع المقرات الفعالة للإنزيمات عديدة المواحيد عند وُجيهات (الأوجه البينية (Interfaces)) الوحيدات:

يتوضع المقر الفعال لبعض الإنزيمات المكونة من سلاسل ببتيدية أو وحيدات عديدة عند الوجه الفاصل بين الوحيدات. وتساهم ثمالات الأمينوأسيل في كلا الوحيدتين في المقر الفعال حيث تعمل على ربط الركائز أو التحفيز. ومن الأمثلة على ذلك مختزلة HMG-CoA، الإنزيم المحدد لمعدل تكوين الكولسترول (الشكل 9-7).

تكون الثمالات التحفيزية مصونة بشكل كبير:

تقوم بعض الأحماض الأمينية، لا سيما السستيين والأحماض الأمينية الهيدروكسيلية والحمضية والأساسية، بأدوار رئيسة في التحفيز. وتعمل هذه الثمالات كأليفات نوى (Nucleophiles) أو محفزات أساسية أو حمضية عامة أو

متقبلات لمجموعة خاضعة للنقل. وبالنسبة إلى كافة أشكال الإنزيمات التي تحفز تفاعلاً معيناً أو نمطاً تفاعلياً، تكون آلية التفاعل الكيميائي واحدة بصرف النظر عن الشكل النسيجي أو الحياتي التي تحدث فيه. ونتيجة لذلك، يغلب أن تكون الأحماض الأمينية التي تقوم بأدوار نوعية جداً في التحفيز والأحماض الأمينية المجاورة لها مصونة بدرجة كبيرة، حتى بين مختلف الأجناس. ويوضح (الجدول 9-1) هذا الحفاظ على البنية الأولية للمقرات التحفيزية لإنزيمات حلمهة مختلفة، لكنها ذات صلة ببعضها بعضاً. كما يوضح (الجدول 9-2) المحافظة بين الأجناس على أنماط البنية الأولية لإنزيم التخليق الحيوي مختزلة HMG-CoA. ولكن بما أنه يمكن لنموذج معين لبنية ثالثية أن يتشكل من ضروب مختلفة من البنية الأولية، فصيانة البنية الأولية العامة للإنزيمات أكبر بكثير مما هو الأمر عليه بالنسبة للبنية الثالثية.



الشكل 9-7: بنية وحيدة مفردة من مختزلة HMG-CoA في عصية الزائفة الميڤالونية *(Pseudomonas mevalonii)*. وتتألف الوحيدة من حقلين، يحتوي الصغير منهما (في الأيسر والأسفل) على طية رابطة للنوكليوتيد مكونة من الصفيحة بيتا والحلزونات ألفا؛ وقد أشير لثمالات الأمينوأسيل بأرقام لتيسير تعقب مساق عديد الببتيد من نهايته الأمينية (N) حتى نهايته الكربوكسيلية (C). لاحظ أن عديد الببتيد يبدأ عند الحقل الكبير ثم يدخل الحقل الصغير وينتهي في نهاية المطاف في الحقل الكبير.

الإنزيم	التسلسل * على جانبي السيرين (S)	التسلسل * على جانبي الهيستيدين(H)
تريبسين	D S C Q D G (S) G G P V V C S G K	V V S A A (H) C Y K S G
كيموتريبسين A	S S C M G D (S) G G P L V C K K N	V V T A A (H) G G V T T
كيموتريبسين B	S S C M G D (S) G G P L V C Q K N	V V T A A (H) C G V T T
ثرومبين	D A C E G D (S) G G P F V M K S P	V L T A A (H) C L L Y P

الجدول 9-1 : تسلسل الأحماض الأمينية المجاورة للمواقع التحفيزية لبعض إنزيمات البروتياز البقرية. ويظهر الأحماض الأمينية على جانبي كل من ثمالة السيريل (S) وثمالة الهيستيديل (H).

** – تدل الحروف على الأحماض الأمينية مرتبة بدءاً من النهاية الأمينية (على اليسار).*

الجنس	الأحماض الأمينية
الإنسان	M G A C C (E) N V I G Y
الهامستر (من القوارض)	M G A C C (E) N V I G Y
الضفدع	M G A C C (E) N V I G Y
القُنفذ البحري	S G A C C (E) N V I G Y
ذبابة الفاكهة	L N A C C (E) N V I G Y
الخميرة	F G A C C (E) N V I G Y

الجدول 9-2 : يمكن المحافظة على البنية الأولية لبعض مناطق المقر المحفز بين الأجناس*.

** ما يظهر في الجدول هو الأحماض الأمينيَّة المحيطة بثمالة الجلوتامات (E) التي يعتقد أنها تساهم في التحفيز من مُختَزِلَة الـ HMG-CoA.*

تؤثر عدة عوامل في معدل التفاعل المحفز إنزيمياً:

درجة الحرارة:

في حين يؤدي ارتفاع درجة الحرارة إلى زيادة معدل التفاعل المحفز إنزيمياً، فإن ذلك لا يتحقق إلا ضمن مجال محدود تماماً لدرجات الحرارة.

يزداد معدل التفاعل في البداية مع ارتفاع درجة الحرارة بسبب زيادة الطاقة الحركية للجزيئات المتفاعلة؛ ولكن تتجاوز الطاقة الحركية للإنزيم في نهاية الأمر حاجز الطاقة الخاص بتحطيم الروابط الهيدروجينية والكارهة للماء الضعيفة التي تحافظ على بنيته الثانوية والثالثية. عند هذه الدرجة من الحرارة يسيطر التمسخ ويترافق مع نقص النشاط التحفيزي نتيجة لذلك. ويعتمد مجال الحرارة الذي يحافظ ضمنه الإنزيم على هيئته المستقرة والفعالة تحفيزياً على درجة حرارة الخلايا التي توجد فيها بوجه عام، وقد يتجاوزها قليلاً. وتبدي الإنزيمات في الإنسان، الذي يحافظ على درجة حرارة للجسم هي 37 درجة مئوية، استقراراً بوجه عام عند درجات تصل حتى 45-55 درجة مئوية. ويمكن أن تكون الإنزيمات في الأحياء المجهرية التي توجد في الينابيع الحارة الطبيعية أو الأحواض الساخنة في المحيطات مستقرة في الدرجة 100 °م أو أكثر.

يرمز للعامل الذي يزداد به معدل العملية البيولوجية مع ارتفاع درجة الحرارة بمقدار 10 درجات مئوية بالرمز Q_{10}، أو ما يسمى معامل الحرارة (Temperature coefficient) ويتضاعف معدل الكثير من العمليات البيولوجية، مثل معدل تقلص القلب المستأصل، عند ارتفاع درجة الحرارة 10°م تقريباً ($Q_{10} = 2$) ويشكل تغير معدلات الكثير من التفاعلات المحفزة إنزيمياً الذي يرافق ارتفاع درجة حرارة الجسم أو انخفاضها مظهراً أساسياً لبقاء (Survival) الأشكال الحية كالسحالي (Lizards) التي لا تحافظ على درجة حرارة ثابتة للجسم. وبالمقابل، تتحمل الكائنات ذات درجة الحرارة الثابتة (Homeothermic) كالإنسان تغيرات محدودة جداً في درجة حرارة الجسم. وبالنسبة إلى البشر، تكون تغيرات معدل التفاعلات بسبب تغير درجة الحرارة محدودة الأهمية الفيزيولوجية إلا في حالات الحمى أو انخفاض الحرارة.

بما أن ارتفاع عدد الجزيئات التي تمتلك طاقة حركية كافية للتغلب على الحاجز الطاقي للتفاعلات يقدم خيارات فيزيولوجية قليلة الأهمية للكائنات ذات درجة الحرارة الثابتة، فكيف إذاً تزيد الإنزيمات معدلات التفاعل؟ يتركز الجواب في قدرة الإنزيمات على إنقاص الحاجز الطاقي للتفاعلات وزيادة التراكيز الموضعية المتفاعلات.

الباهاء (pH):

عندما يقاس النشاط الإنزيمي عند عدة قيم للباهاء (pH)، يلاحظ النشاط الأمثل بشكل نموذجي بين القيمتين 5 و 9، ولكن بعض الإنزيمات (كالببسين (Pepsin)) تكون فعالة عند قيم للباهاء (pH) تقع خارج هذا المجال.

ويتحدد شكل منحنيات النشاط في درجات الباهاء (pH) المختلفة بما يلي:

1 – تمسخ الإنزيمات عند باهاء (pH) مرتفعة أو منخفضة.

2 – تغيرات شحنة الإنزيم أو الركائز أو كليهما؛ فبالنسبة للإنزيم يمكن أن تؤثر الباهاء (pH) في نشاطه بتغييرها لبنية أو شحنة إحدى الثمالات المساهمة بربط الركيزة أو بالتحفيز. ولتوضيح ذلك افرض أن إنزيماً مشحوناً بشحنة سالبة (Enz^-) يتفاعل مع ركيزة مشحونة بشحنة إيجابية (SH^+):

$$Enz^- + SH^+ \longrightarrow EnzSH$$

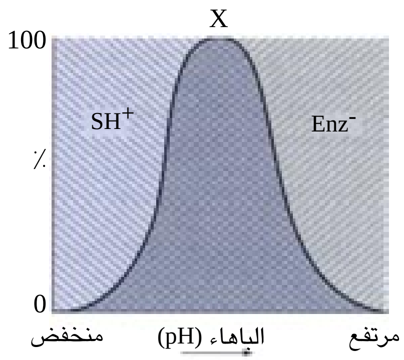
فعند الباهاء (pH) المنخفضة، يكتسب الإنزيم بروتوناً ويخسر شحنته السلبية:

$$Enz^- + H^+ \longrightarrow EnzSH$$

وعند الباهاء (pH) المرتفعة تتأين الركيزة وتخسر شحنتها الإيجابية:

$$SH^+ \longrightarrow S + H^+$$

وبما أن الأشكال التي تتـآثر هي SH^+ و Enz^- فـقط حسب تحديدنا لـهذا المثـال، فـإن قيم الباهاء المتطرفة ستنقص التركيز الفعال للإنزيم Enz^- والركيزة SH^+ مما ينقص من سرعة التفاعل (الشكل 9-8)، ويظهر أنّ كلا من الإنزيم والركيزة يكونان بحالة أيونية مناسبة للتفاعل فقط في منطقة التظليل المشترك، وتكون التراكيز الأعظمية للإنزيم والركيزة المشحونة بشكل صحيح عند قيمة الباهاء (pH). ويمكن أن تخضع الإنزيمات أيضاً لتغيرات في هيئتها عندما تختلف الباهاء (pH). فقد يكون وجودُ مجموعة مشحونة بعيدة عن المنطقة التي ترتبط بها الركيزة ضروريا للمحافظة على بنية ثالثية أو رابعية فعالة للإنزيم. وقد ينحل البروتين عند تغير شحنة هذه المجموعة ويصبح أكثر اكتنازا أو يتفارق إلى مواحيد طليعية (Protomeres). كل هذا يؤدي إلى ضياع نشاط الإنزيم الذي قد يكون نهائياً أو قابلاً للعودة عندما يعود الإنزيم إلى الباهاء المثلى له، وذلك حسب شدة التغيرات التي طرأت عليه.



الشكل 9-8 : تأثير الباهاء (pH) في النشاط الإنزيمي.

يتناسب المعدل الأولي مع تركيز الإنزيم:

المعدل الأولي لتفاعل ما هو معدله المقاس قبل تشكل كمية من النواتج كافية لعكسه. وهو دوماً متناسب مع تركيز الإنزيم في التفاعلات المحفزة إنزيميا. لاحظ أن هذا التناسب يقتصر على المعدلات الأولية فقط.

يؤثر تركيز الركيزة في معدل التفاعل:

تعالج التفاعلات الإنزيمية في المناقشة اللاحقة على أنها تشمل ركيزة واحدة وناتجا واحدا. وفي حين أن هذه الحالة تنطبق على بعض التفاعلات المحفزة إنزيميا، غير أن لمعظم هذه التفاعلات ركيزتان وناتجان أو أكثر. ولكن هذا لا يغير من صحة هذه المناقشة.

إذا ازداد تركيز الركيزة [S]، مع بقاء كافة الظروف الأخرى ثابتة، تزداد السرعة الأولية (v_i) (السرعة المقيسة عندما تكون كمية قليلة جداً من الركيزة قد تفاعلت) حتى تصل إلى قيمة أعظمية (V_{max}) لا تتجاوزها (الشكل 9-9).

تزداد السرعة بزيادة تركيز الركيزة حتى نقطة يقال فيها عن الإنزيم إنه أصبح «متشبعاً» (Saturated) بالركيزة. وتصل السرعة الأولية المقيسة إلى قيمتها الأعظمية التي لا تتأثر بعدها بأية زيادة أخرى في تركيز الركيزة لأن الركيزة تكون موجودة بتركيز مولي أكبر بكثير من تركيز الإنزيم. وعلى سبيل المثال، إذا أثر إنزيم وزنه الجزيئي قدره 100,000 على ركيزة وزنها الجزيئي 100، وكان كلاهما موجوداً بتركيز 1 مجم/مل، يكون هناك 1000 مول من الركيزة لكل مول واحد من الإنزيم؛ وعليه يكون:

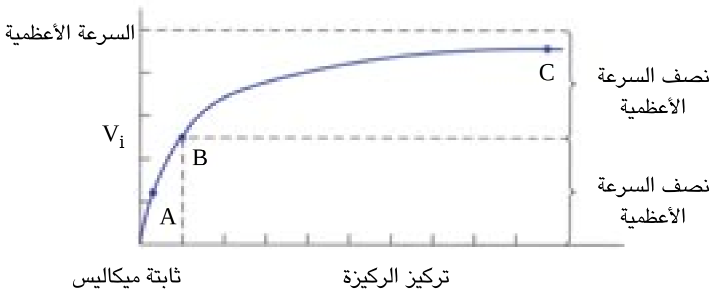
$$[ENz] = 0.1\ \mu g/\ mL = 10^{-9}\ molar$$

$$[S] = 0.1\ mg/\ mL = 10^{-3}\ molar$$

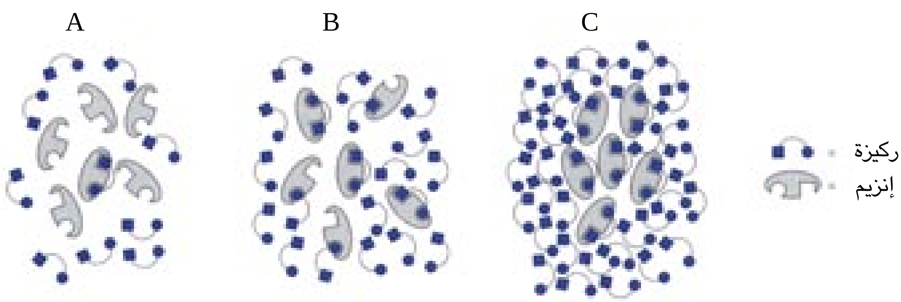
أي أن فائض الركيزة بالنسبة للإنزيم هو 10^6 مول. وحتى إذا نقص تركيز الركيزة [S] بمقدار 100 مرة تبقى موجودة بفائض مولي يزيد على الإنزيم 10,000 ضعفاً. ويوضح (الشكل 9-10) الحالات عند النقاط A و B و C في (الشكل 9-10). ويكون جزء فقط من جزيئات الإنزيم الموجود متحداً مع الركيزة عند النقطتين A وB حتى ولو وجدت جزيئات الركيزة بنسبة أكبر من الإنزيم؛ ويعود ذلك إلى أن ثابتة توازن التفاعل $Enz + S \rightleftharpoons EnzS$ (تشكل مركب إنزيم ـ ركيزة) ليس كبيراً بلا حدود. ولذلك فإن زيادة أو نقص تركيز الركيزة [S] عند النقطتين A وB تؤدي إلى زيادة أو نقص مقدار الإنزيم المرتبط بالركيزة على شكل مركب (EnzS)، ولذا فإن

v_i تعتمد على [S] وأما عند النقطة C، حيث تكون كل جزيئات الإنزيم مرتبطة بالركيزة، لا تؤدي الزيادة الإضافية في تركيز الركيزة إلى زيادة معدل التفاعل، لأنه ليس هناك إنزيم حر متاحاً للارتباط. وفي مثل هذه الظروف، يعتمد معدل التفاعل على سرعة التحفيز عند المقر التحفيزي للإنزيم، وبذلك يتحدد به فقط.

تمثل الحالة B حالة ذات أهمية نظرية كبيرة، حيث يتشبع عندها نصف جزيئات الإنزيم تماماً بالركيزة. وبناء عليه تكون سرعة التفاعل مساوية لنصف السرعة الأعظمية $\frac{(V_{max})}{2}$ التي تظهر عند تركيز معين للإنزيم.



الشكل 9-9 : تأثير تركيز الركيزة [S] في سرعة التفاعل المُحفَّز إنزيمياً.



الشكل 9-10 : تمثيل الإنزيم عند تركيز منخفض (A) ومرتفع (C) وعند التركيز K_m للركيزة (B) وتتوافق النقاط A و B و C مع تلك التي في (الشكل 9-9).

توضح معادلتا ميكاليس ـ منتن وهيل تأثيرات تركيز الركيزة:

معادلة ميكاليس ـ منتن (Michaelis-Menten equation):

يمكن تحديد تركيز الركيزة الذي تكون عنده سرعة التفاعل مساوية لنصف السرعة الأعظمية تجريبياً برسم بياني للسرعة مقابل تركيز الركيزة [S] (الشكل 9-9). يدعى هذا التركيز بالقيمة K_m أو ثابتة ميكاليس ويكون لها وحدة التركيز المولي نفسها (مول/ل).

عندما يكون تركيز الركيزة [S] مساوياً تقريباً للقيمة K_m، تصبح حساسة جداً لتغيرات [S] ويعمل الإنزيم بنصف السرعة الأعظمية. وفي الحقيقة، تقترب قيمة K_m للكثير من الإنزيمات من التركيز الفيزيولوجي لركائزها.

يعبر عن معادلة ميكاليس ـ منتن كما يلي:

$$v_i = \frac{V_{max}\ [S]}{K_m + [S]}$$

وهي تصف سلوك الكثير من الإنزيمات واستجابتها لتغير تركيز الركيزة. ويمكن إيضاح اعتماد السرعة الأولية للتفاعل المحفز إنزيمياً على تركيز الركيزة [S] وعلى K_m بتقييم معادلة ميكاليس ـ منتن كما يلي:

1 – عندما يكون تركيز الركيزة [S] أقل بكثير من K_m (النقطة A في الشكلين 9-9؛ 9-10): في هذه الحالة، لن تتأثر قيمة حاصل جمع تركيز الركيزة [S] و K_m في المخرج (المقام) إلا بشكل ضيئل يمكن معه إهمال قيمة [S] وبما أن V_{max} و K_m ثابتان كلاهما، يمكن استبدال نسبتهما بثابتة جديدة هي K:

$$v_i = \frac{V_{max}\ [S]}{K_m + [S]}\ ;\quad v_i \approx \frac{V_{max}\ [S]}{K_m} \approx \frac{V_{max}}{K_m}[S] \approx K[S]$$

[≈ تعني «مساوياً تقريباً»]

وبتعبير آخر، عندما يكون تركيز الركيزة أقل بكثير مما هو مطلوب للوصول لنصف السرعة الأعظمية (قيمة K_m)، تعتمد السرعة الأولية v_i على تركيز الركيزة [S].

2 – عندما يكون تركيز الركيزة [S] أكبر بكثير من K_m (النقطة C في الشكلين 9-9 و 9-10): هنا تتغير قيمة المخرج قليلاً جداً بإضافة K_m إلى تركيز الركيزة [S] بحيث يمكن إسقاط قيمة K_m من المخرج (المقام):

$$v_i = \frac{V_{max}\ [S]}{K_m + [S]} \quad ; \quad v_i \approx \frac{V_{max}\ [S]}{[S]} \approx V_{max}$$

هذا يعني أنه عندما يتجاوز تركيز الركيزة [S] قيمة K_m بكثير، تكون السرعة الأولية أعظمية (V_{max}).

3 – **عندما يساوي تركيز الركيزة [S] قيمة K_m** (النقطة B في الشكلين 9-9 و 9-10):

$$V_i = \frac{V_{max}\ [S]}{K_m + [S]} \quad ; \quad V_i = \frac{V_{max}\ [S]}{[S] + [S]} = \frac{V_{max}\ [S]}{2[S]} = \frac{V_{max}}{2}$$

وهذا يعني أنه عندما يساوي تركيز الركيزة [S]قيمة K_m، تكون السرعة الأولية نصف أعظمية. كما يخبرنا عن كيفية تحديد قيمة K_m تجريبياً أيْ تحديد تركيز الركيزة [S] الذي تكون فيه السرعة الأولية نصف أعظمية.

يستخدم الشكل الخطي لمعادلة ميكاليس ـ منتن في تحديد قيم K_m و V_{max}:

غالباً ما يتطلب قياس القيمة العددية للسرعة الأعظمية V_{max} ـ ومن ثم حساب K_{eq} ـ تراكيز مرتفعة غير عملية للركيزة للوصول إلى حالة التشبع في المختبر؛ وللتغلب على ذلك يسمح التمثيل الخطي لمعادلة ميكاليس ـ منتن باستنتاج سهل

لقيمتي V_{max} و K_m بدءاً من سرعات التفاعل المقيسة عند تراكيز للركيزة أقل من تركيز التشبع:

$$v_i = \frac{V_{max}\ [S]}{K_m + [S]}$$

أقلب المعادلة:

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_m + [S]}{V_{max}\ [S]}$$

أو:

$$\frac{1}{vi} = \frac{K_m}{V_{max}} \bullet \frac{1}{[S]} + \frac{[S]}{V_{max}\ [S]}$$

اختصر:

$$\frac{1}{V_i} = \frac{K_m}{V_{max}} \bullet \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

وهذه هي معادلة الخط المستقيم من النوع:

$$y = a \bullet x + b$$

حيث:

$$X = \frac{1}{[S]} \quad \text{و} \quad y = \frac{1}{V_i}$$

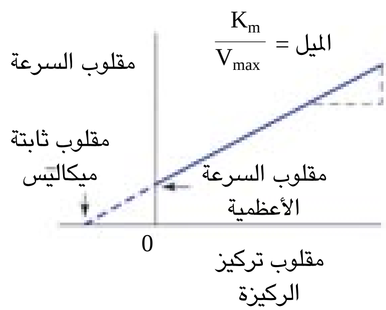
وعند إتمام الرسم البـيـاني لـ y (أو $1/v_I$) كـدالة على x أو ($1/[S]$)، يكون الجـزء المحـصـور (Intercept y) أو b هو $1/V_{max}$، ويكون المنحـدر أو الميل a هو K_m/V_{max}. ويمكن حساب الجزء المحصور x السلبي باعتبار O = y. عندئذ يكون:

$$X = -\frac{b}{a} = -\frac{1}{K_m}$$

ويدعى مثل هذا الرسم بالرسم البياني مزدوج القلب (Double-reciprocal plot)؛ أي يرسم مقلوب ($1/v_1$) مقابل مقلوب القيمة[S] ([S] /1).

ويمكن تحديد قيمة ثابتة ميكاليس K_m من الرسم البياني السابق الذكر أو ما يسمى مخطط لاين ويڤر ـ بيرك (Lineweaver-Burk Plot) (الشكل 9-11) باستعمال إما الميل والجزء المحصور y أو الجزء المحصور x السلبي. وبما أنه يعبر عن[S] بالمولية (Molarity)، تكون وحدة قيمة K_m بالمولية أو بالمول لكلِ لتر. ويمكن التعبير عن السرعة vi بأية وحدة، لأن قيمة K_m مستقلة عن تركيز الإنزيم. ويتطلب رسم المُخطط البياني السابق نقاطاً قليلة نسبياً لتحديد K_m، وهي الطريقة الأكثر استخداماً لهذا الغرض.

ومن الناحية التجريبية، يمكن أن ينجم عن استخدام مقاربة لاين ويڤر ـ بيرك لتقييم K_m تأكيدات غير مبررة على معطيات حصلنا عليها عند تراكيز منخفضة للركيزة، كما هي الحال عندما تزداد تراكيز الركيزة المختارة للدراسة بمعدل ثابت. ويمكن التغلب على هذا العيب باختيار تراكيز للركيزة تزداد مقلوباتها (Reciprocals) بمعدل ثابت.



الشكل 9-11 : المنحني مزدوج القلب أو منحني لاين ويڤر ـ بارك لقيم مقلوب السرعة مقابل مقلوب التركيز المستخدم لتقييم K_m و V_{max}.

لدينا أيضـاً أسلوب آخر لتقـييم K_m و V_{max} تجريبياً هـو طريقة إيدي (Eadie) وهوفْستي (Hofstee):

يمكن إعادة ترتيب معادلة ميكاليس ـ منتن كما يلي:

$$\frac{v_i}{[S]} = -V_i \frac{1}{K_m} + \frac{V_{max}}{K_m}$$

لتقـيـيم K_m و V_{max}، نرسم بيـانيـاً قـيم $\frac{V_i}{[S]}$ (على المحـور y) مـقـابل v_i (المحور x). وعندئذ يكون الجزء المحصور y هو $\frac{V_{max}}{K_m}$ ، والجزء المحصور x هو V_{max} والميل هو $-\frac{1}{K_m}$

في حين أن كلاً من أسلوبي لاين ويفر ـ بيرك وإيدي هوفْستي يفيدان في حالات منتقاة، فإن التحديد الدقيق لكل من K_m و V_{max} يتطلب معالجة إحصائية.

إن لقيم K_m أهمية من الناحية العملية؛ فعند تركيز الركيزة البالغ 100 ضعف من قيمة K_m، سيكون معدل عمل الإنزيم عند الحد الأعظمي تقريباً، ولذلك تدل السرعة الأعظمية V_{max} على مقدار الإنزيم الفعال الموجود. وهذه هي الحالة المرغوبة عموماً عند مقايسة الإنزيمات. وتدلنا قيمة K_m على مقدار الركيزة التي يجب إضافته لقياس V_{max}. كما تجد المعالجات المقلوبة المزدوجة تطبيقاً واسعاً في تقييم مثبطات الإنزيمات.

يمكن أن تقترب K_m من ثابتة الارتباط:

تساوي ألفة الإنزيم لركيزته تقريباً مقلوب ثابتة تفارق K_d مركب الإنزيم ـ الركيزة (EnzS):

$$\text{Enz} + \text{S} \underset{K_{-1}}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} \text{EnzS}$$

$$K_d = \frac{k_{-1}}{k_1}$$

وبطريقة أخرى، يمكن القول إنه كلما قل ميل الركيزة والإنزيم إلى التفارق، زادت ألفة الإنزيم للركيزة.

ويمكن أن تفيد قيمة K_m الخاصة بإنزيم ما بالنسبة لركيزته لقياس قيمة K_d الخاصة به. ولكن، حتى يكون ذلك صحيحاً يجب أن يكون الافتراض الذي يدخل في اشتقاق معادلة ميكاليس ـ منتن صحيحاً. ويفترض الاشتقاق أن الخطوة الأولى للتفاعل المحفز إنزيمياً:

$$\text{Enz} + \text{S} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} \text{EnzS}$$

سريعة وفي حالة التوازن دائماً. وبكلمات أخرى، يجب أن يكون معدل تفارق المركب EnzS إلى إنزيم + ركيزة أسرع بكثير من معدل تفارقه إلى إنزيم + ناتج:

$$\text{EnzS} \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} \text{Enz} + \text{P}$$

وفي معادلة ميكاليس ـ منتن، يكون تركيز الركيزة [S] الذي يعطي سرعة تفاعل مساوية لنصف السرعة الأعظمية هو:

$$[S] = [K_2 + K_{-1}]/K_1 = K_m$$

لكن عندما يكون K_{-1} أكبر بكثير من K_1، عندئذ يكون:

$$K_2 + K_{-1} \approx K_{-1}$$

ويكون

$$[S] = [K_{-1}/ K_1] - K_d$$

وفـي ظـل هـذه الظـروف، يكـون $\frac{1}{K_m} = \frac{1}{K_d}$ الألفـة؛ وإذا كـان مـجـمـوع $k_2 + k_{-1}$ ليس مساوياً تقريباً لقيمة K_{-1}، لن تستطيع قيمة أن تفيدنا في تقييم الألفة أو $\frac{1}{K_d}$.

معادلة هيل (Hill Equation):

لا تبـدي بعض الإنزيمـات والبـروتينات الأخـرى الرابطة للجين (Ligand-binding proteins) كالهيموجلوبين حـرائك التشبع التقليدية وفق معادلة ميكاليس ـ منتن. وعندما يرسم [S] مقـابل، يكون منحنى التشبـع سينياً (Sigmoid) (الشكل 9-12). ويُشير ذلك بشكل عام إلى ارتباط تعاوني (Cooperative) للركيزة بعدة مقرات بحيث يؤثر الارتباط عند مقر واحد بالارتباط بالمقرات الأخرى كما هو مشروح في الفصل السابع بالنسبة إلى الهيموجلوبين.

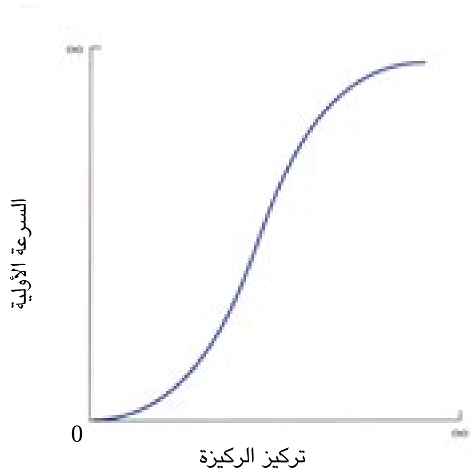
وبالنسبة إلى حرائك تشبع الركيزة السينية، تكون طرق التمثيل البياني لتقييم تركيز الركيزة الذي يؤدي إلى نصف السرعة الأعظمية المشروحة آنفاً غير صحيحة (لا تُنتج الخطوط المستقيمة). وكبديل لذلك نستخدم تمثيلاً تخطيطياً لمعادلة هيل لتقيم حرائك التشبع السينية، وهي معادلة مشتقة أصلاً لوصف الارتباط التعاوني للأكسجين بالهيموجلوبين. وإذا عبرنا عن معادلة هيل بشكل خط مستقيم يكون:

$$\log \frac{V_i}{V_{max} - V_i} = n/\log [s] - \log k^1$$

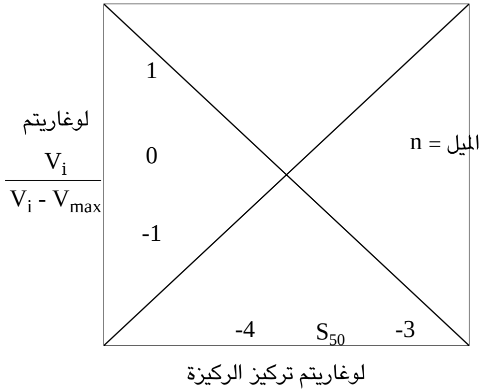
حيث أن k هو ثابتة معقدة. وتنص المعادلة على أنه عندما يكون [S] منخفضاً بالمقارنة مع، تزداد سرعة التفاعل حسب القوة التاسعة لقيمة [S] ويوضح الشكل 9-13 مخطط هيل للمعطيات الحركية الخاصة بإنزيم ذي حرائك ارتباط تعاونية. ويقود مخطط مقابل لوغاريتم [S] إلى تشكيل خط مستقيم يبلغ ميله n، حيث أن n

عبارة عن قيمة اختبارية تعتمد قيمتها على عدد مقرات ربط الركيزة وعدد التآثرات بين مقرات الارتباط هذه ونمطها. وعندما تكون قيمة $n = 1$، تعمل مقرات الارتباط بشكل مستقل عن بعضها بعضاً وبتَشَبُّع بسيط، أي يلاحظ سلوك حرائك ميكاليس ـ منتن؛ وأما إذا كانت n أكبر من 1 فتكون المقرات تعاونية، وكلما زادت قيمة n زادت قوة التعاون وكان مخططُ حرائك التَشَبُّع أكثر سينية. وأما إذا كانت n أصغر من 1، فيقال عن المقرات إنها تبدي تعاونية سلبية.

عند السرعة نصف الأعظمية $(v_i = \frac{V_{max}}{2})$ يكون $\frac{V_i}{V_{max} - V_i} = 1$، ومن ثم يكون لوغاريتم $\frac{V_i}{V_{max} - V_i}$ مساوياً للصفر؛ وهكذا لتحديد قيمة تركيز الركيزة الذي يؤدي إلى السرعة نصف الأعظمية ($[S]_{50}$)، نرسم خطاً عمودياً على المحور x من النقطة التي يكون فيها لوغاريتم $\frac{V_i}{V_{max} - V_i}$ مساوياً للصفر.



الشكل 9-12 : حرائك التشبع السيني.



الشكل 9-13 : التمثيل البياني لمعادلة هيل لتحديد تركيز الركيزة الذي يؤدي إلى نصف السرعة الأعظمية. تستخدم هذه الطريقة عندما تكون حرائك تشبع الركيزة سينية.

يفرق التحليل الحركي التثبيط التنافسي عن غير التنافسي:

في حين أننا نميز مثبطات النشاط الإنزيمي على أساس كون التثبيط يزول أو لا يزول بزيادة تركيز الركيزة، فإن الكثير من المثبطات لا تبدي الخصائص المثالية للتثبيط التنافسي (Competitive) أو غير التنافسي الصرف المذكورة لاحقاً. وتكون الطريقة البديلة هي تصنيف المثبطات حسب مقر فعلها، فالبعض يرتبط بالإنزيم عند موضع ارتباط الركيزة نفسه (المقر التحفيزي) في حين يرتبط بعضها الآخر عند مقر ما (مقر تفارغي (Allosteric)) منفصل عن المقر التحفيزي.

تماثل المثبطات التنافسية الركيزة بشكل نموذجي:

يحدث التثبيط التنافسي التقليدي عند مقر ارتباط الركيزة (التحفيزي). وتماثل البنية الكيميائية للمثبط المضاهئ للركيزة (I) عموماً البنية الكيميائية للركيزة (S)؛ ولذلك فهو يرتبط بشكل عَكوس مع الإنزيم مشكلاً مركب الإنزيم ـ المثبط (EnzI) وليس المركب EnzS. وعندما يوجد كل من الركيزة وهذا النمط من المثبط معاً،

يتنافسان على مقرات الارتباط نفسها على الإنزيم. والمثال النموذجي للتثبيط التنافسي هو تنافس المالونات (Malonate) (I) مع السكْسينات (S) على نازعة هيدروجين السكسينات.

تحفز نازعة هيدروجين السكسينات تشكيل الفومارات (Fumarate) بنزع ذرة هيدروجين واحدة من كل ذرة كربون ألفا في السكسينات (الشكل 9-14).

يمكن أن ترتبط المالونات ($^-OOC\text{-}CH_2\text{-}COO^-$) بنازعة الهيدروجين ويتشكل المركب EnzI. ولا يمكن نزع الهيدروجين من هذا المركب، لأنه لا توجد طريقة لنزع حتى ذرة هيدروجين واحدة من ذرة الكربون ألفا الوحيدة في المالونات دون تشكيل ذرة كربون خماسية التكافؤ. ويكون التفاعل الوحيد الذي يمكن أن يخضع له المركب EnzI هو التفكك ثانية إلى الإنزيم الحر والمثبط. ويكون هذا التفكك على شكل المعادلة التالية:

$$\text{Enz - I} \underset{K_{-1}}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} \text{Enz + 1}$$

وتكون ثابتة توازنه K_i:

$$K_i = \frac{[\text{Enz}]\,[\text{I}]}{[\text{Enz -I}]} = \frac{K_1}{K_{-1}}$$

ويمكن فهم تأثير المثبطات التنافسية من خلال التفاعلات التالية:

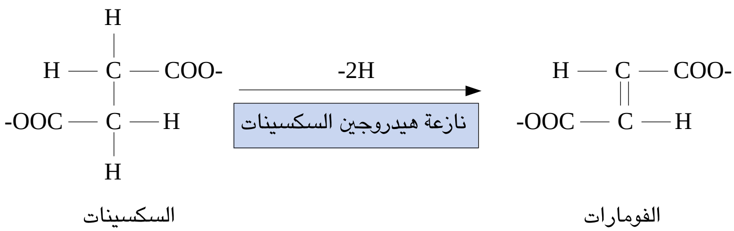
$$\text{Enz} \underset{}{\overset{\pm I}{\rightleftharpoons}} \text{EnzI (inactive)} \xrightarrow{\times} \text{Enz + P}$$

$$\text{Enz} \underset{\pm S}{\rightleftharpoons} \text{EnzS (active)} \longrightarrow \text{Enz + P}$$

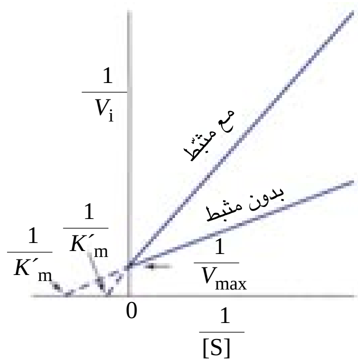
ويعتمد معدل تشكيل النواتج على تركيز EnzS فقط. ولنفترض أن المثبط يرتبط ارتباطاً قوياً جداً بالإنزيم (K_i = رقماً صغيراً). ففي هذه الحالة يكون هناك القليل من الإنزيم الحر Enz المتوفر للارتباط مع الركيزة S لتشكيل المركب EnzS ثم

الإنزيم + المركب P. ولذلك يكون معدل التفاعل (تشكيل P) بطيئاً. وبطريقة المحاكمة نفسها نجد أنه لن ينقص التركيز نفسه من مثبط أضعف ارتباطاً (K_i =رقماً أكبر) معدل التفاعل المحفز بشكل واضح.

افرض الآن أنه أضيف المزيد من الركيزة عند تركيز ثابت للمثبط؛ عندها يزداد احتمال ارتباط الإنزيم بالركيزة أكثر من احتمال ارتباطه بالمثبط. وبذلك تزداد نسبة EnzS إلى EnzI، ومن ثم معدل التفاعل أيضاً. وعند تركيز مرتفع بشكل كاف من الركيزة، يكون تركيز EnzI صغيراً جداً، ويكون معدل التفاعل المحفز مثلما هو في حالة غياب المثبط (الشكل 9-15).



الشكل 9-14 : تفاعل نازعة هيدروجين السكسينات.



الشكل 9-15 : مخطط لاين ويفر ـ بارك للتثبيط التنافسي التقليدي. لاحظ الزوال الكامل للتثبيط عند [S] المرتفع (منخفضة).

تيسر المخططات مزدوجة القلب دراسة المثبطات:

يمثل (الشكل 9-15) حالة نموذجية للتثبيط التنافسي المبين بيانياً بشكل مخطط لاين ويفر ـ بارك. وقد قيست سرعة التفاعل (v_i) عند تراكيز مختلفة للركيزة مع تركيز ثابت للمثبط. وتتطابق الخطوط المرسومة عبر النقاط التجريبية عند المحور y. وبما أن الجزء المحصور y هو $1/V_{max}$، فهذا يعني أنه عند تركيز مرتفع بلا نهاية للركيزة S ($[S]/1 = 0$) ، تكون v_i نفسها كما هي بغياب المثبط. ولكن يختلف الجزء المحصور على المحور x (الذي يرتبط بقيمة K_m) باختلاف تركيز المثبط ويصبح رقماً أكبر ($-1/K'_m$) أصغر من ($K_m/1$) في حال غياب المثبط.

إذن، يزيد المثبط التنافسي K_m الظاهرية (K'_m) للركيزة. وبما أن قيمة K_m هي تركيز الركيزة الذي يكون فيه تركيز الإنزيم الحر مساوياً لتركيز الإنزيم الموجود بشكل EnzS، يتوفر إنزيم حر بشكل واضح للارتباط مع المثبط. وبالنسبة إلى التثبيط التنافسي البسيط، يكون الجزء المحصور على المحور x هو:

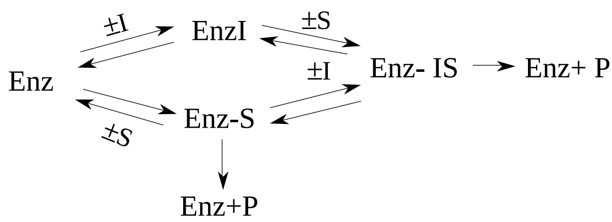
$$x = \frac{1}{K_m\left(1 + \frac{[1]}{K_i}\right)}$$

يمكن حساب K_m بغياب المثبط، وتقيم K_i باستعمال المعادلة السابقة؛ فإذا كان عدد مولات المثبط المضافة أكبر بكثير من عدد مولات الإنزيم الموجود، يمكن اعتبار تركيز المثبط [I] عموماً على أنه التركيز المُضاف (المعروف) للمثبط.

وتشير قيم K_i لمجموعة مثبطات (تنافسية) مضاهئة للركيزة إلى أيها الأكثر كفاءة. وعند التركيز المنخفض، تؤدي المثبطات ذات القيمة K_i الأدنى إلى أكبر درجة من التثبيط. وتعمل الكثير من الأدوية الفعالة سريرياً كمثبطات تنافسية للأنشطة الإنزيمية الهامة في الخلايا الجرثومية والحيوانية.

تنقص المثبطات العكسية غير التنافسية قيمةَ V_{max} لكنها لا تؤثّر في قيمة K_m:

لا يحدث أي تنافس بين الركيزة والمثبط في التثبيط غير التنافسي. ويحمل المثبط عادة تماثلاً بنيوياً قليلاً أو معدوماً مع الركيزة، ويمكن الافتراض بأنه يرتبط بحقل مختلف على الإنزيم. وتنقص المثبطات غير التنافسية السرعة الأعظمية التي نحصل عليها بمقدار معين من الإنزيم (تنقص V_{max})، ولكنها لا تؤثر في K_m. وبما أنه يمكن للمثبط والركيزة أن يرتبطا بمقرات مختلفة، لذلك قد يتشكل كل من المركبين EnzI وEnzIS. وبما أن EnzIS يمكن أن يتحطم ويتشكل ناتج بمعدل أقل مما يحدث بالنسبة للمركب EnzS، لذلك قد يبطؤ التفاعل لكنه لا يتوقف. وقد تحدث تفاعلات التنافس التالية:

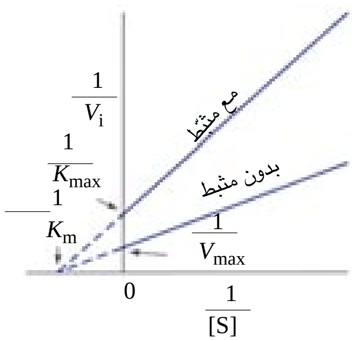


إذا كان للركيزة S الألفة نفسها لكل من الإنزيم Enz والمركب EnzI (أي لا يؤثر المثبط في ألفة الإنزيم تجاه الركيزة)، نحصل على النتائج المبينة في (الشكل 9-16) عندما يرسم $1/ v_i$ مقابل $1/ [S]$ سواء بوجود المثبط وغيابه. ويفترض أنه ليس هناك أي تغير هام في هيئة المقر الفعال عندما يكون المثبط مرتبطاً.

تؤدي المثبطاتُ غير العكوسة إلى تسميم الإنزيمات:

تؤدي ضروب مختلفة من «السموم» الإنزيمية، كاليودو أسيتاميد (Iodoacetamide) والأيونات المعدنية الثقيلة (الفضة والزئبق) والعوامل المؤكسدة... إلخ، إلى إنقاص نشاط الإنزيمات. وتؤثر هذه المثبطات بوجه عام في التحوير الكيميائي لثمالات الأحماض الأمينية في الإنزيم، والتي تلعب أدواراً أساسية في

التحفيز؛ وليس من السهل عكس هذه العملية سواء بنزع بقية المثبط الحر أو بزيادة تركيز الركيزة. وغالباً ما لا تبدي هذه المثبطات تماثلاً بنيوياً مع الركيزة؛ ولكن، عندما يتوضع مقر الهجوم الكيميائي ضمن المقر التحفيزي، غالباً ما يمارس وجود الركيزة أو الناتج دوراً وقائياً بحصر أو إبطاء إمكانية وصول المثبط إلى ثمالات الأحماض الأمينية المستهدفة. وقد لا يميز التحليل الحركي للنمط المشروح سابقاً بين السموم الإنزيمية والمثبطات الحقيقية العكسية غير التنافسية. ويكون التثبيط العكسي غير التنافسي نادراً على أية حالة. ولسوء الحظ، لا يمكن على الدوام تقدير ذلك، لأن كلاً من التثبيط العكسي والتثبيط غير العكسي غير التنافسي يبديان حرائك متماثلة.



الشكل 9-16 : مخطط لاين ويفر ـ بارك للتثبيط العكوس غير التنافسي.

تضم معظم التفاعلات ركيزتين أو أكثر:

المعالجة السابقة للتفاعلات المحفزة إنزيمياً تدرس فقط التفاعلات التي تشمل ركيزة واحدة وناتجاً واحداً. ولكن معظم التفاعلات الحيوية الكيميائية تشمل ركيزتين أو أكثر وناتجين أو أكثر. وفي حين أن التحليل الحركي المفصل لآليات التفاعلات عديدة الركائز تقع خارج إطار اهتمام هذا الفصل، غير أننا سندرس فيما يلي التفاعلات المكونة من ركيزتين وناتجين والتي تدعى التفاعلات ثنائية الركيزة والناتج أو تفاعلات الـ Bi Bi (“Bi Bi” reactions) .

توصف التفاعلات الإنزيمية المعقدة ببعض المصطلحات التي تسهل تمييزها:

أصبح من المتفق عليه استخدام الاصطلاحات المذكورة أدناه لتوصيف التفاعلات المعقدة المحفزة إنزيمياً.

يرمز للركائز بـ A وB وC وD بالترتيب الذي تضاف به إلى الإنزيم. وبالمثل، تدعى النواتج P و Q و R و [S] حسب ترتيب انفصالها عن الإنزيم. وتدعى الأشكال المختلفة للإنزيم بالأحرف E و F و G (E هو الشكل الحر للإنزيم).

وتشير الرموز Uni (1 أو أُحادي) و Bi (2 أو ثنائي) و Ter (3 أو ثلاثي) و Quad (4 أو رباعي) إلى عدد المتفاعلات والنواتج. وفي حين تشمل الكثير من التفاعلات المحفزة إنزيمياً متفاعلات ونواتج أكثر (مثل التفاعلات 2-3، أي ثنائية المتفاعلات ـ ثلاثية النواتج (Bi Ter))، فإن التفاعلات ثنائية الركيزة ـ ثنائية النواتج (Bi Bi) [يكون لها ركيزتان وناتجان] هي التي ستدرس فيما يلي. ويجري تطوير المعادلات التي تصف سلوك التفاعلات المحفزة إنزيمياً والأكثر تعقيداً، والتي تقع خارج نطاق اهتمامنا في هذا الفصل، من خلال تطبيق الطرق الأساسية نفسها المستخدمة في اشتقاق معادلة ميكاليس ـ منتن.

تفاعلات الانزياح (Displacement) التتابعية أو المفردة:

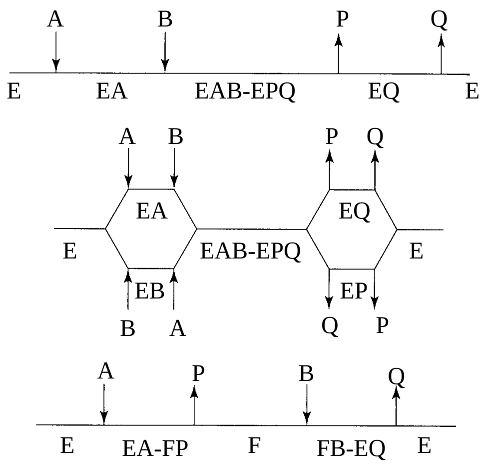
في التفاعلات التتابعية (Sequential reactions) يجب أن ترتبط كافة الركائز بالإنزيم قبل أن يتحرر أي ناتج. وتدعى التفاعلات من هذا النمط أيضاً تفاعلات الانزياح المفردة (Single-displacement reactions) لأن المجموعة الخاضعة للنقل (G) تمر مباشرة من الركيزة المانحة (A-G) إلى الركيزة المتقبلة (B).

وبالاعتماد على كيفية إضافة الركائز إلى الإنزيم، نميز بين التفاعلات ذات الترتيب العشوائي (Random order) والتفاعلات ذات الترتيب الإلزامي (Compulsory order)؛ ففي الأولى يمكن أن تضاف أية ركيزة أولاً، ويتشكل E-A أو E-B؛ أما في التفاعلات ذات الترتيب الإلزامي فلا يمكن أن تتفاعل إلا A مع E،

في حين تتفاعل B مع المركب E-A فقط (الشكل 9-17). وأحد تفاسير الترتيب الإلزامي لإضافة الركيزة أنه عند إضافة A يتحرَّض تغيُّر في هيئة الإنزيم يؤدي إلى ارتصاف الثمالات الأساسية لارتباط B.

التفاعلات من نمط البينج ـ بونج أو كرة الطاولة (Ping-Pong):

ينطبق مصطلح كرة الطاولة (البينج ـ بونج) على الآليات التي يتحرر فيها ناتج أو أكثر من الإنزيم قبل إضافة كافة الركائز. وتعد تفاعلات البينج ـ بونج ثنائية الركيزة ـ ثنائية الناتج (BiBi Ping-Pong) تفاعلات انزياح مزدوج لأن المجموعة الخاضعة للنقل (G) تنزاح أولاً من A-G بواسطة الإنزيم ثم من E-G بواسطة B فيتشكل الناتج Q-G.



الشكل 9-17 : تمثيل لثلاث آليات للتفاعلات ثنائية الركيزة والناتج (BiBi). وتمثل الخطوط الإنزيم أما الأسهم فتمثل إضافة الركائز ومغادرة النواتج. في الأعلى: آلية BiBi مرتبة مميزة للعديد من إنزيمات الإرجاع الأكسدي المعتمد على NAD (P)؛ في الوسط: تفاعل BiBi عشوائي نموذجي لبعض نازعات الهيدروجين وإنزيمات الكيناز؛ وفي الأسفل: تفاعل البينج ـ بونج النموذجي لنواقل الأمين والكيموتربسين.

تفرق المعطيات الحركية بين أنماط الآليات:

تستخدم المعطيات الحركية للحالة الثابتة (Steady state) ومعادلات المعدلات المناسبة للتمييز بين مختلف الآليات. وتكون المصطلحات في هذه المعادلات الحركية، رغم كثرتها، مضاهئة لتلك المستخدمة في معادلة ميكاليس ـ منتن ذات الركيزة المفردة. وتشتمل هذه المصطلحات على (1) V_{max}: وهي معدل التفاعل المقيس عند وجود كل من A و B بتراكيز التشبع، (2) تراكيز A و B التي تؤدي إلى السرعة نصف الأعظمية عند وجود الركيزة الأخرى بتركيز التشبع، (3) ثوات تفارق تحرير A و B من الإنزيم.

تميز المخططات المزدوجة القلب (Double-reciprocal) بين آليات البينج ـ بونج والآليات التتابعية:

للتمييز بين مختلف أنماط الآليات، يقاس اعتماد المعدل الأولي على تركيز الركيزة A عند عدة تراكيز مختلفة (لكن ثابتة) للركيزة B. ثم تجمع المعطيات بالنسبة إلى B كركيزة متغيرة وتثبت الركيزة A. وتظهر نماذج الخطوط عندما ترسم المعطيات بشكل مخططات مزدوجة القلب نمط الآلية؛ فعلى سبيل المثال، تكون الخطوط المتوازية مشخصة لآلية البينج ـ بونج ثنائية الركيزة ـ ثنائية الناتج (Bi Bi)، كما تشخص الخطوط التي تتقاطع في الربع السلبي الآليات ثنائية الركيزة ـ ثنائية الناتج (Bi Bi) المرتبة.

وتستخدم دراسات تثبيط النواتج لتتميم هذه الدراسات الحركية والتمييز بين التفاعلات BiBi المرتبة والتفاعلات BiBi العشوائية؛ فعلى سبيل المثال، يكون أي ناتج في التفاعل BiBi سريع التوازن مثبطاً تنافسياً للمركب A عند تركيز ثابت للركيزة B، وللركيزة B وعند تركيز ثابت للركيزة A. وتشمل نماذج التثبيط الأكثر تعقيداً في التفاعلات BiBi المرتبة كلاً من النماذج التنافسية والمختلطة للتثبيط بحسب الناتج المدروس وأي من الركائز متغيرة وأيها ثابتة.

الخلاصة:

تغير درجة الحرارة والباهاء (pH) وتركيز الإنزيم وتركيز الركيزة والمثبطات معدلات التفاعلات المحفزة إنزيمياً مما يوفر تطبيقات هامة بالنسبة للصحة والمرض. وتغير الإنزيمات معدلات التفاعل بواسطة (1) إنقاص طاقة التفعيل اللازمة لتشكيل الحالات الانتقالية، (2) العمل كمراصيف تزيد تراكيز الركيزة الموضعية، وتحافظ على الركائز بهيئات تدعم حدوث تفاعلات كيميائية معينة، (3) تأمين ثمالات الأحماض الأمينية التي تقوم مجموعاتها الوظيفية بأدوار نوعية في التحفيز. وفي حين تغير الإنزيمات معدلات التفاعل بشدة غير أنها لا تؤثر في ثوابت التوازن أو تغيرات الطاقة الحرة الإجمالية للتفاعلات. ويشمل التحفيز الإنزيمي حالات انتقالية ذات طاقة أقل من تلك الخاصة بالتفاعلات غير الإنزيمية الموافقة؛ وهذا ما ينقص حاجز الطاقة الخاص بالتفاعل.

يحدث ارتباط الركيزة وتحفيزها عند المقر التحفيزي (الفعال)، وهو منطقة ثلاثية الأبعاد من الإنزيم يمكن أن تحتوي ـ فضلاً عن ثمالات الأحماض الأمينية ـ على تمائم إنزيمية أو أيونات معدنية. وغالباً ما تستقر المقرات الفعالة في فلوح في الإنزيمات، أو على الوجه الفاصل بين وحيدات الإنزيمات متعددة المواحيد. وعند اقتراب الركائز تخضع المقرات التحفيزية لتغيرات في الهيئة يمكن أن تنتقل أيضاً بعيداً عن المقر التحفيزي (تذكر ارتباط الأكسجين بالهيموجلوبين). ويمكن أن تؤدي هذه تغيرات الهيئة المحرضة بالركيزة إلى «خلق» جيوب رابطة للركيزة، واصطفاف الثمالات التحفيزية الرئيسة بشكل مناسب للتحفيز.

عند ارتفاع درجة حرارة الإنزيم يزيد معدل التفاعل، لكن يستمر ذلك فقط حتى يتجاوز مستوى الطاقة الحركية للإنزيم المستوى المطلوب لتمزّق القوى الضعيفة غير التساهمية التي تحافظ على بنيته الثانوية والثالثية الأصلية. وعند هذه النقطة، ينقص النشاط بسرعة. كما تؤثر التغيرات الأكثر اعتدالاً لدرجة الحرارة في معدلات التفاعلات المحفزة إنزيمياً في الكائن الحي لكن إلى درجة محددة بدقة في الكائنات الحية ثابتة الحرارة كالإنسان.

وتؤثر التغيرات المعتدلة في الباهاء (pH) (أي في مجال الباهاء 5-9) في النشاط

الإنزيمي لتغييرها شحنة مجموعات R الحمضية أو الأساسية الضعيفة للأحماض الأمينية التي تعمل على التحفيز أو ربط الركائز أو تهايؤ المقر التحفيزي. كما قد تؤثر تغيرات الباهاء (pH) في شحنة الركائز؛ وهكذا تتميز الإنزيمات بقيم للباهاء (pH) تصبح عندها فعالة بشكل مثالي (قيم الباهاء المثالية). وتؤدي قيم الباهاء المتطرفة إلى تمسخ الإنزيمات من خلال نزع أو إضافة البروتونات إلى ثمالات الأحماض الأمينية الحمضية أو الأساسية بحيث لا تعود قادرة على تشكيل الروابط الملحية التي تحافظ على البنية الثانوية والثالثية، وأحياناً الرابعية أيضاً.

في كافة الحالات الهامة فيزيولوجياً تقريباً، يكون التركيز الجزيئي للإنزيم [E] هو من تراتيب المدى تحت التركيز الجزيئي لركيزته [S]. وبما أن الركيزة الوفيرة تكون متاحة للتفاعل مع الإنزيم الحر، فإن أية زيادة أو نقص في تركيز الإنزيم يترافقان بزيادة أو نقص موافقين في معدل التفاعل. ولكن، لا تؤثر التغيرات في تركيز الركيزة [S] في معدلات التفاعل إلا عند وجود كمية كافية من الإنزيم الحر على وشك التفاعل. وعندما ترتبط كل جزيئات الإنزيم بشكل معقد إنزيم ـ ركيزة (EnzS) (شروط V_{max}) لن تؤدي أية زيادة إضافية في [S] إلى زيادة معدل التفاعل. وتعبر معادلة ميكاليس ـ منتن عن تأثيرات تركيز الركيزة [S] في نشاط الكثير من الإنزيمات. وأما ثابتة ميكاليس (K_m) فهي تركيز الركيزة الذي يؤدي إلى معدل تفاعل نصف أعظمي ($V_{max}/2$ أي يوجد نصف الإنزيم بشكل EnzS) ويكون لقيم K_m أبعاد المولية وتتحدد بالرسم البياني. وأما بالنسبة للمنحني مضاعف القلب (مقلوب قيمة v_i مقابل مقلوب [S])، فإن الجزء المحصور x هو $\frac{1}{K_m}$ والجزء المحصور y هو $\frac{1}{V_{max}}$. ويعبر بمعادلة هيل عن تأثير [S] في معدلات التفاعلات المحفزة بالإنزيمات التفارغية. وتشمل معظم التفاعلات المحفزة إنزيمياً ركيزتين وناتجين أو أكثر. ويجري التمييز بين مختلف صفوف التفاعلات من النمط Bi Bi ـ التفاعلات التي تشمل ركيزتين وناتجين ـ اعتماداً على ارتباط الركائز بشكل تتابعي أو عشوائي وعلى تحرر النواتج قبل ارتباط كافة الركائز أم لا.

تشتمل مضاهئات الركيزة، التي ترتبط بشكل عكسي بالمقر التحفيزي وتعمل كمثبطات تنافسية للإنزيمات، على الكثير من الأدوية ذات القيمة الطبية. كما تعمل

معظم المواد الكيميائية التي تبدي تماثلاً بنيوياً قليلاً أو معدوماً مع الركائز وترتبط عند المقر التحفيزي أو في أي مكان آخر كمثبطات غير تنافسية للنشاط الإنزيمي. ويمكن القول بإيجاز: تؤدي المثبطات التنافسية إلى إنقاص K_m بوضوح لكن ليس لها تأثير في V_{max} ، في حين تنقص المثبطات غير التنافسية قيمة V_{max} من دون التأثير في K_m. ويمكن تمييز هذه المثبطات بقياس النشاط الإنزيمي عند عدة تراكيز للركيزة بوجود المثبط وغيابه. وبعد ذلك تُرسم مجموعات المعطيات في الحالتين بشكل $1/v_i$ مقابل [S]. ففي حالة التثبيط التنافسي التقليدي، يتقاطع الخطان على المحور y (أي أن V_{max} لا تتغير)، لكن جزء x المحصور ($-\frac{1}{K_m}$) ينقص بوجود المثبط (أي تزداد K_m الظاهرية). وأما حالة التثبيط غير التنافسي فيزداد فيها الجزء المحصور y ($\frac{1}{V_{max}}$) بوجود المثبط (أي تنقص قيمة V_{max}، لكن الجزء المحصور لا يتأثر).

* References:

Bender ML, Bergeron RJ, Komiyama M: *The Bioorganic Chemistry of Enzymatic Catalysis*. Wiley-Interscience, 1984.

Freeman RB, Hawkins HC (editors): *The Enzymology of Posttranslational Modification of Proteins*. Academic Press, 1985.

Lawrence CM, Rodwell VW, Stauffacher CV: Crystal structure of *Pseudomonas mevalonii* HMG-CoA reduetase at 3.0 angstrom resolution. *Science* 1995;268:1758

Segal IH: *Enzyme kinetics*. Wiley–Interscience, 1975.

Suckling CJ : *Enzyme Chemistry* . Chapman & Hall, 1990.

Symons RH: Small catalytic RNAs. *Annu Rev Biochem* 1992;61:641.

Walsh CT: *Enzymatic Reaction Mechanisms.* Freeman, 1979.

Walsh CT: Suicide substrates, mechanism-based enzyme inactivators: Recent developments. *Annu Rev Biochem* 1984;53:493.

See also references in chapter 7.(انظر أيضاً مراجع الفصل السابع)

الفصل العاشر

الإنزيمات: آليات الفعل

Enzymes: Mechanisms of Action

مقدمة:

تعكس آليات التحفيز الإنزيمي آليات التفاعلات الكيميائية تماماً؛ ولكن ـ وخلافاً للحفازات (Catalysis) اللاعضوية أو العضوية الأبسط ـ تبدي الإنزيمات درجة مرتفعة جداً من النوعية للركيزة والكفاءة التحفيزية الهائلة، وذلك نتيجة التطور المديد للمقرات الفعالة (Active sites) الذي جعلها ملائمة بشكل متقن للتحفيز السريع والانتقائي للتفاعلات الخاصة بها.

تتضمن السبل أو الطرق التي تحول بها الإنزيمات الركائز إلى نواتج سلسلة متوالية من المتوسطات (Intermediates) المرتبطة بالإنزيمات ـ وليس متوسطاً واحداً مكوناً من الإنزيم والركيزة فقط. ويتمثل الهدف النهائي لدراسات الآليات في فهمنا للأسباب (على المستوى الجزيئي) التي تجعل الإنزيمات حفازات ذات كفاءة ونوعية؛ ويتطلب هذا الهدف تحديد المرحلة المحددة لسرعة التفاعل (Rate-limiting step) في التفاعل الإجمالي، وتمييز كل المتوسطات المرتبطة بالإنزيم، وتحديد الأيونات الفلزية (المعدنية) أو المجموعات الوظيفية لثمالات الأحماض الأمينية أو التمائم الإنزيمية (Coenzymes) أو المجموعات الضميمة (Prosthetic) التي تساهم في ربط الركائز والنواتج والمتوسطات على المقر الفعال، والتي تساهم أيضاً بشكل مباشر في التحفيز. وبشكل مضاه للأيض المتوسط (Intermediary metabolism) الذي يدرس المتوسطات في السبل الأيضية، فقد اتفق على إطلاق اسم «علم الإنزيمات المتوسط»

(Intermediary enzymology) على دراسة المتوسطات المتشكلة خلال التحفيز والمرتبطة بالإنزيمات. وفي هذا الفصل، يجرى توضيح الملامح الرئيسية للتحفيز الإنزيمي بدراسة إنزيم الكيموتربسين، وهو بروتين بسيط نسبياً لا يحوي تمائم إنزيمية أو مجموعات ضميمة أو أيونات فلزية (معدنية).

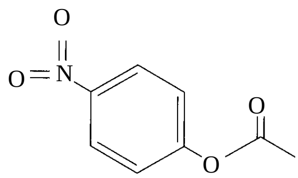
الأهمية الطبية البيولوجية:

تشكل الأحداث الجزيئية التي ترافق تحويل الركائز إلى النواتج مادة موضوع آلية العمل الإنزيمي؛ وتقود هذه الدراسات إلى مقاربة منطقية للعلاج وتصميم الأدوية، المجال الذي يحمل إمكانية التطور الكبيرة في المستقبل القريب. وتسهل المعلومات البنيوية عالية الدقة والميز (Resolution) التي نحصل عليها الآن من تصوير البلورات بالأشعة السينية (X-ray crystallography) والمشتركة مع المعلومات الميكانيكية (Mechanistic information) تصميم الأدوية التي تثبط الإنزيمات النوعية كالمختزلة (HMG-CoA reductase)، الإنزيم الناظم للتخليق الحيوي للكوليسترول. وتوحي دراسات الآليات أيضاً بطرق استعمال تقنيات الدنا المأشوب (Recombinant DNA) والتطفير الموجه بالمقر (Site-directed mutagenesis) لتعديل نوعية الإنزيم أو كفاءته التحفيزية. وتسهل هذه الطرق، في نهاية المطاف، تصميم إنزيمات ذات خصائص نوعية مرغوبة وإدخالها في جسم الإنسان.

يوضح علم الإنزيمات المتوسط للكيموتربسين الخصائص العامة للتحفيز الإنزيمي:

يحفز الكيموتربسين حلمهة (Hydrolysis) الروابط الببتيدية التي يساهم في مجموعتها الكربوكسيلية حمض أميني أروماتي (الفينيل ألانين (Phe) أو التيروزين (Tyr) أو التريبتامين (Try)) أو حمض أميني ذي مجموعة R لا قطبية ضخمة (الميثيونين Met) كما يحفز الكيموتربسين ـ كالعديد من البروتيازات الأخرى ـ حلمهة بعض الإسترات (Esters). وفي حين أنه ليس لمقدرة الكيموتربسين على تحفيز حلمهة الإسترات أهمية فيزيولوجية، إلا أنها تسهل دراسة الآلية التحفيزية.

وتسهل الركيزة التخليقية (Synthetic) المسماة بارا ـ نترو فينيل أسيتات (*p*-nitrophenylacetate) (الشكل 10-1) تحليل نشاط الكيموتربسين بالقياس اللوني، لأن حلمهة هذه الركيزة تطلق بارا ـ نترو فينيل الذي ينقلب في الوسط القلوي إلى الأنيون بارا ـ نترو فينيلات الصفراء التي يمكن تعيين تركيزها مباشرة باستعمال مقياس الطيف الضوئي، وهو جهاز يقيس تماص (Absorbance) الضوء عند أطوال الموجات المختلفة للضوء.



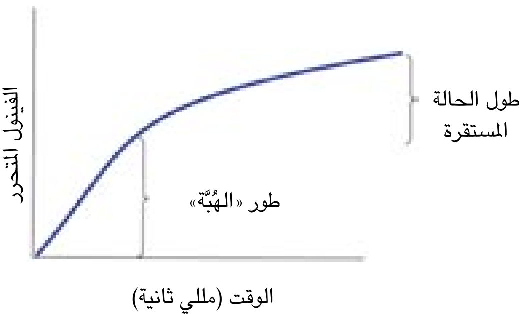
الشكل 10-1 : بارا – نترو فينيل أسيتات (PNPA).

تكشف حرائك وقف الجريان (Stop-flow kinetics) علم الإنزيمات المتوسط للكيموتربسين:

يمكن دراسة حرائك حلمهة الكيموتربسين للبارا ـ نترو فينيل أسيتات في جهاز «وقف الجريان». وتستخدم تجارب وقف الجريان كميات متساوية المولية تقريباً من الركيزة والإنزيم، وتقيس الأحداث التي تحصل في المللي ثواني القليلة الأولى بعد مزج الإنزيم والركيزة. ويكون لجهاز وقف الجريان محقنتان: واحدة للكيموتربسين والأخرى للبارا ـ نترو فينيل أسيتات؛ ويتم مزج الإنزيم والركيزة بواسطة جهيزة (Device) آلية تقوم بدفع محتويات كلتا المحقنتين بسرعة وبشكل متزامن ضمن أنبوب ضيق مفرد يمر عبر مقياس طيف ضوئي، وينقل الامتصاص بعد المزج إلى حاسوب للعرض والتحليل.

يتم تحرير البارا ـ نترو فينيلات بشكل ثنائي الطور:

يجري إطلاق أنيون البارا ـ نترو فينيلات في طورين متميزين (الشكل 10-2): (1) طور «الهبة» (Burst)، ويتميز بتحرر سريع لأنيون البارا ـ نترو فينيلات؛ (2) وطور لاحق يتميز بإطلاق إضافي أبطأ له. ويمكن فهم وجود هذين الطورين من خلال الخطوات المتتابعة للتحفيز الموضحة في (الشكل 10-3).

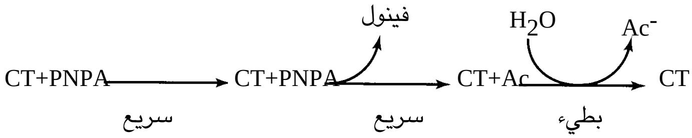


الشكل 10-2 :حرائك إطلاق أنيون البارا ـ نترو فينيلات عندما يقوم الكيموتربسين بحلمهة البارا – نترو فينيل أسيتات في جهاز وقف الجريان. ويحسب «الفينول المتحرر» من الكثافة البصرية لأنيون البارا ـ نترو فينيلات.

الخطوة البطيئة هي حلمهة مركب الكيموتربسين ـ أسيتات (CT-Ac):

عند تحول كل جزيئات الكيموتربسين المتوفرة إلى المركب CT-Ac ، فإنه لا يمكن أن يحدث تحرير إضافي لأنيون البارا ـ نترو فينيلات، حتى تتوفر جزيئات أخرى من الكيموتربسين الحر عن طريق النزع البطيء لأنيون الأسيتات من المركب CT-Ac بواسطة الحلمهة (الشكل 10-3). ويوافق طور «الهبة» لتحري البارا ـ نترو فينيلات (الشكل 10-2) تحول كل جزيئات الكيموتربسين الحر المتوفرة إلى المركب CT-Ac مع التحرير المتزامن لأنيون البارا ـ نترو فينيلات؛ وينجم الإطلاق اللاحق لأنيون البارا ـ نترو فينيلات (الفينول؛ PNPA)، الذي يلي طور الهبة، عن التحرير البطيء

للكيموتربسين الحر بحلمهة المركب CT-Ac. وبذلك يصبح هذا الكيموتربسين الحر متوفراً ليشكل من جديد المركبين CT-PNPA و CT-Ac مع ما يرافق ذلك من إطلاق لـ PNPA. وفي الواقع، يكون مدى طور الهبة (أي عدد مولات أنيون البارا ـ نترو فينيلات المتحررة) متناسباً طرداً مع عدد مولات الكيموتربسين الموجودة في البداية.

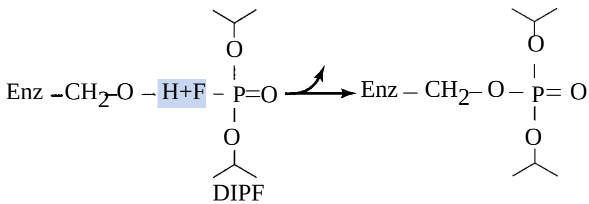


الشكل 10-3 : الخطوات المتوسطة في تحفيز حلمهة البارا ـ نترو فينيل أسيتات بالكيموتربسين (CT = الكيموتربسين؛ PNPA= البارا نترو فينيل أسيتات ؛ CT-PNPA = مركب الكيموتربسين ـ بارا ـ نترو فينيل أسيتات؛ CT-Ac = مركب الكيموتربسين ـ الأسيتات؛ الفينول = أنيون البارا ـ نترو فينيلات؛ -Ac = أنيون الأسيتات). يتم تشكل المركبين CT-PNPAوCT-Ac بشكل سريع نسبة لحلمهة المركب CT-Ac.

يلعب السيرين في الموضع 195 دوراً رئيسياً في الحفيز:

تكون مجموعة الأسيل للمتوسط أسيل ـ الكيموتربسين (Acyl-CT) مرتبطة بثمالة سيريل شديدة التفاعلية (السيرين 195 من الكيموتربسين)؛ وتبدو التفاعلية (Reactivity) المرتفعة للسيرين 195 من خلال مقدرته (ولكن دون مقدرة ثمالات السيريل الـ 27 الباقية للكيموتربسين) على التفاعل مع ثنائي إيزو بروبيل فسفو فلوريدات (DIPF) (الشكل 10-4). وتحدث تفاعلات مماثلة مع بروتيازات سيرينية أخرى.

إن اشتقاق السيرين 195 (اتحاده مع (DIPF)) يعطل فعالية الكيموتربسين وكذلك العديد من البروتيازات الأخرى. ويصطلح على تسمية هذه البروتيازات باسم «البروتيازات السيرينية» (Serine proteases).



الشكل 10-4 : تفاعل الهيدروكسيل الأولي للسيرين 195 في الكيموتربسين مع ثنائي إيزوبروبيل فسفو فلوريدات (DIPF).

تؤمن شبكة ترحيل الشحنات (Charge relay network) مكوكاً(Shuttle) من البروتونات خلال التحفيز:

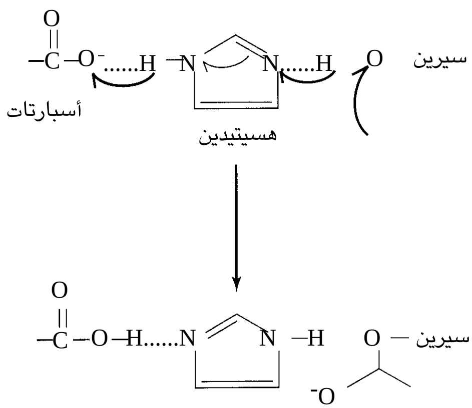
تتكون شبكة ترحيل الشحنات للكيموتربسين من ثلاث ثمالات أمينو أسيل بعيدة عن بعضها بعضاً في البنية الأولية لكنها تصبح ضمن مسافة تشكيل الروابط (Bond-forming distance) فيما بينها في البنية الثالثية. هذه الثمالات الثلاث هي الأسباراجين (Asp) 102 والهيستيدين (His) 57 والسيرين (Ser) 195) وفي حين تتوضع معظم الثمالات المشحونة للكيموتربسين على سطح الجزيء، فإن ثمالات شبكة ترحيل الشحنات تكون «منطمرة» في الداخل اللاقطبي للجزيء، وتصطف الثمالات الثلاثة كما يلي بالترتيب (من اليسار إلى اليمين):

Asp 102-His 57-Ser 195

تذكر أن السيرين 195 هو الثمالة التي تؤسيل (Acylated) في أثناء التحفيز بالكيموتربسين؛ ويؤدي اقتراب أنيون الأسيتات (المشتقة من البارا ــ نترو فينيل أسيتات) من ذرة الأكسجين للمجموعة R لثمالة السيرين 195 إلى إثارة زيحان تتابعي للبروتونات بحيث تتحرك البروتونات بشكل مكوكي من السيرين 195 إلى الهيستيدين57 إلى الأسباراجين 102 (الشكل 10-5). ويعزز هذا التحرك المكوكي التفاعلية الكيميائية لأكسجين السيريل، مسرعاً معدل الأسيلة (Acylation).

خـلال نزع الأسـيل (Deacylation) من المتـوسط أسـيل السـيـرين 195، تنتـقل البروتونات في الاتجـاه العكسي مما يسـهل إطلاق مجموعة الأسيل وإعادة السـيرين 195 إلى حالتـه الأصلية. ويعـتقد أن سـلاسل مماثلة من زيحـان البـروتونات ترافق حلمهة الركائز الفيزيولوجية للكيموتربسـين كالببتيد.

وكـغـيـره من العـديد من البـروتيـازات، يطلق الكيـمـوتربسـين من الريبـاسـات (Ribosomes) كطليعـة إنزيم عـاطل تحفـيزياً تدعى طليعة الإنزيم (Proenzyme) أو مولِّد الإنزيم (Zymogen). ويتضـمن تحـويل طليعة الإنزيم «مولد الكيمـوتربسـين» ـ كمـا سيناقش في (الفصل 11) ـ إلى الإنزيم الفعـال «الكيمـوتربسـين» سلسلة من الأحداث الانتقـائيـة الحالـة للبروتينات، والتي تؤدي في نهاية الأمر إلى كشف المقر الفعال وارتصاف مركب ترحيل الشحنات المسؤول عن التحفيز.

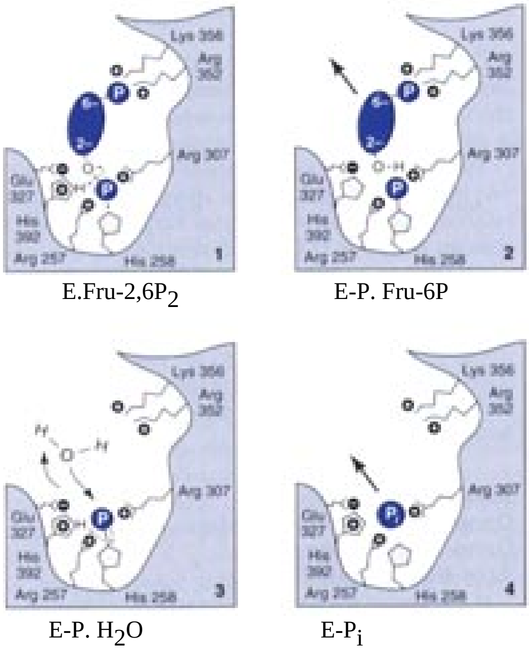


الشكل 5-10 : عملية تحرك البروتونات المكوكي للكيموتربسـين خلال أسيلة السيرين 195 بالركيزة (Sub).

التحفيز بإنزيم فسفاتاز الفركتوز ـ 2، 6 ـ ثنائي الفسفات:

يحفز هذا الإنزيم ـ وهو من نمط الفسفوهيدرولاز (الفصل 21) ـ نزع الفسفات من الكربون 2 للفركتوز ـ 2، 6 ـ ثنائي الفسفات بالحلمهة. ويوضح (الشكل 10-6)

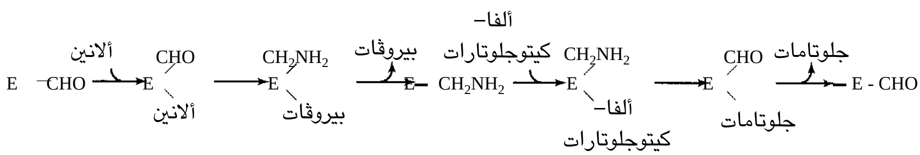
أدوار ثمالات المقر الفعال السبع في التحفيز بهذا الفسفوهيدرولاز. وكما هو الحال في التحفيز بالبروتيازات السيرينية، يتضمن التحفيز هنا «ثالوثاً (Triad) تحفيزياً»، ولكن يوجد هنا ثمالتا هيستيدين (His) وثمالة جلوتامات (Glu) واحدة؛ ويوضح الشكل أيضاً تثبيت الركيزة المشحونة سلبياً بشدة بثمالات الأرجينين (Arg) والليسين (Lys) المشحونة إيجابياً.



الشكل 10-6 : التحفيز بفسفاتاز الفركتوز ـ 2 ،6 ـ ثنائي الفسفات. (1) الشحنة السلبية الرباعية للركيزة المرتبطة تثبت بتآثرات الشحنة ـ الشحنة مع ثمالات الأرجينين (Arg) 257 و 257 و 352 وثمالة الليسين (Lys) 356. ويثبت عضو من المثلث التحفيزي هو الجلوتامات (Glu) 327 . الشحنة الإيجابية الموجودة على الهيستيدين(His) 392. (2) يهاجم الهيستيدين 392 الأليف للنواة مجموعة الفسفوريل على الكربون C-2، مما ينقل الفسفات إلى الهيستيدين 258 ويشكل متوسطاً مكوناً من الإنزيم والفسفات، ويبتعد الفركتوز –6– فسفات عن الإنزيم. (3) يقوم جزيء من الماء بهجمة ثانية أليفة للنواة [ربما يساعدها الجلوتامات 327 الذي يعمل كقاعدة (base)]، وتتشكل الفسفات اللاعضوية. (4) تتحرر الأورثوفسفات اللاعضوية من الأرجينين 257 والأرجينين 307.

تساهم تمائم الإنزيمات مباشرة في التحفيز الإنزيمي:

إن المساهمة المباشرة لتمائم الإنزيمات في التحفيز موضحة لاحقاً بالنسبة لصنف الإنزيمات المعروفة باسم ناقلات الأمين (Aminotransferases) (أو بشكل أكثر شيوعاً (Transaminases)) وتحفِّز ناقلات الأمين تبديل المجموعات الأمينية ألفا من الأحماض الأمينية ألفا مع المجموعات الكيتونية (أكسو (oxo)) من الأحماض الكيتونية ألفا: البيروفات أو الأُكسالوآسيتات أو كيتوجلوتارات، و يمثل ذلك التفاعلات المركزية في التخليق الحيوي للأحماض الأمينية وتقويضها (الفصلان 30 و 31). وكما هو الحال في الكثير من التفاعلات التي تتطلب تمائم إنزيمية، فإن التحفيز بناقلات الأمين يتضمن آلية البينج ـ بونج أو كرة الطاولة (Ping-Pong) المناقشة في الفصل التاسع، مع تحرير ناتج واحد قبل إضافة الركيزة الثانية (الشكل 10-7).



الشكل 10-7 :آلية البينج ـ بونج (كرة الطاولة) لنقل الأمين. يمثل E-CHO و E-CH2-NH2 مركبي الإنزيم ـ فسفات البيريدوكسال والإنزيم ـ فسفات البيريدوكسامين على الترتيب. (Ala = الألانين؛ Pyr = البيروفات؛ KG = ـ كيتوجلوتارات؛ Glu =الجلوتامات).

تستطيع الثمالات في المقر التحفيزي أن تعمل كحفازات حمضية ـ قاعدية:

عند ارتباط الركيزة بالمقر التحفيزي يصبح من الممكن للمجموعات الوظيفية المشحونة (أو القابلة للشحن) للسلاسل الجانبية لثمالات الأمينوأسيل المجاورة أن تساهم في التحفيز بعملها كحفازات حمضية أو قاعدية.

هناك فئتان كبيرتان للتحفيز الحمضي القاعدي بالإنزيمات: التحفيز الحمضي (أو القاعدي) العام والنوعي. وهناك تفاعلات تتغير معدلاتها استجابة لتغيرات تركيز البروتونات (H^+) أو أيون الهيدرونيوم (H_3O^+) ولا تتأثر بتراكيز الأحماض أو القواعد الأخرى الموجودة في المحلول. يقال عن هذه التفاعلات إنها خاضعة لتحفيز حمضي نوعي أو تحفيز قاعدي نوعي. وأما التفاعلات التي تكون سرعاتها مستجيبة لكل الأحماض (مانحات البروتون) أو القواعد (متقبلات البروتون) الموجودة في المحلول، فيقال إنها خاضعة لتَحفيز حمضي عام أو قاعدي عام.

يميز تغير الباهاء (pH) وتركيز الدارئة بين نوعي التحفيز الحمضي القاعدي: العام والنوعي:

إذا تغيرت سرعة التفاعل بتغير الباهاء (pH) مع تركيز ثابت للدارئة، يقال عن التفاعل إنه محفز بقاعدة نوعية (إذا كانت الباهاء (pH) فوق 7)، أو محفز بحمض نوعي (إذا كانت الباهاء (pH) أقل من 7). أما إذا تغيرت سرعة التفاعل عند ازدياد تركيز الدارئة مع ثبات الباهاء (pH) فيقال عن التفاعل إنه خاضع لتحفيز قاعدي عام (إذا كانت الباهاء (pH) فوق 7) أو تحفيز حمضي عام (إذا كانت الباهاء (pH) أقل من 7).

وكمثال على التحفيز الحمضي النوعي، يمكن أن نأخذ تحويل الركيزة (S) إلى ناتج (P)، والذي يحصل في خطوتين: خطوة نقل البروتون السريعة العكوسة:

$$S + H_3O^+ \rightleftharpoons SH^+ + H_2O$$

تتبعها خطوة أبطأ ـ وهي، من ثم، محددة لسرعة التفاعل ـ تجري فيها مراتبة (Rearrangement) الركيزة الآخذة للبروتونات إلى الناتج:

$$SH^+ + H_2O \longrightarrow P + H_3O^+$$

تؤدي زيادة تركيز أيون الهيدرونيوم $[H_3O^+]$ إلى زيادة سرعة التفاعل برفع تركيز SH^+ أي الحمض المقترن للركيزة، والذي هو الركيزة للخطوة المحددة لسرعة التفاعل في التفاعل الإجمالي، ويعبر عن ذلك رياضياً:

$$\text{Rate} = \frac{d[P]}{dt} = k\,[SH^+]$$

بحيث أن P = الناتج، t = الزمن، k = ثابتة السرعة النوعية، $[SH^+]$ = تركيز الحمض المقترن للركيزة.

بما أن تركيز SH^+ يعتمد على تركيز S وتركيز H_3O^+، فإن العبارة الجبرية للسرعة العامة بالنسبة لتفاعلات التحفيز الحمضي النوعي هي:

$$\frac{d[P]}{dt} = k\,[S][H_3O^+]$$

لاحظ أنه من الضروري للتحفيز الحمضي النوعي أن تحتوي العبارة الجبرية للسرعة على S و H_3O^+ فقط.

لنعتبر كذلك ـ إضافة للتحفيز الحمضي النوعي الموصوف أعلاه ـ أنه يوجد أيضاً تحفيز بأيون الإيميدازوليوم من دارئة الإيميدازول؛ وبما أن الإيميدازول حمض ضعيف (pK_a نحو 7) فهو مانح ضعيف للبروتونات، وبذلك يكون التفاعل:

$$S + \text{Imidazole - H+} \longrightarrow SH+ + \text{Imidazole}$$

بطيئاً وهو المحدد للسرعة للتفاعل الإجمالي. لاحظ أن الخطوات السريعة والبطيئة تعكس عندما تتغير الآلية من التحفيز الحمضي النوعي إلى العام. وتكون العبارات الجبرية (المعادلات) للسرعة في حالة التحفيز الحمضي العام معقدة عادة، ولذلك لن تناقش هنا.

يبَصرنا التّطفير الموجه بالمقر بحقيقة آليات عمل الإنزيمات:

تؤمن طرق البيولوجيا الجزيئية وسائل فعالة جداً لاستقصاء آلية عمل الإنزيمات، ومن أهمها قابلية تبديل التسلسل النوكليوتيدي للجينات وتخليق البروتينات في مضيف وحيد الخلية كخلايا الثدييات المزروعة أو جرثومة الإشريكية القولونية. وبمشاركة نتائج تصوير البلورات بالأشعة السينية لتحديد البنية ثلاثية الأبعاد مع الاستقصاءات الحركية التقليدية، فإن هذه الطرق الجزيئية تؤمن معلومات قيِّمة ومفصلة حول الآليات التي تؤثر بها الإنزيمات.

عندما تشير المعطيات الفيزيائية والحركية إلى قيام ثمالة حمض أميني ما بوظيفة نوعية في التحفيز (أي تقوم بالعمل كقاعدة (أساس) عامة أو كعامل ناقل لمجموعة كيميائية)، فإنه يمكن إثبات هذا الاستنتاج بتبديل الحمض الأميني بآخر عاجز عن إنجاز الوظيفة المفترضة؛ ويمكن في بعض الحالات تحقيقُ ذلك بالتعديل الكيميائي للإنزيم. ولكن الطريقة الأعم هي استخدام التطفير الموجه بالمقر (Site-directed mutagenesis) لإحداث طفرة في الجين الذي يرمز الإنزيم ثم نقل الجين للتعبير عنه وتحديد صفات الإنزيم المتبدل بالطفرة. وبتبديل تسلسل الأسس لرامزة كودون (Codon) نوعية، يستطيع التّطفير الموجه بالمقر إحلال أي حمض أميني بروتيني مرغوب فيه مكان حمض أميني معين؛ كما يستطيع التّطفير الموجَّه بالمقر أيضاً استبدال الأحماض أمينية متعددة. ويؤخذ أحد قلائل النوكليوتيد القصيرة (Oligonucleotide) (أي 19 موحوداً أو قسيماً (19 mer)) المنتج بالتخليق الآلي، والذي يرمز حمضاً أمينياً طافراً، ويثبت (Annealing) في المختبر إلى النمط الشائع (wild-type) من الجين المعزول، ثم ينتج جين طافر بإضافة بوليميراز الدنا (DNA) وليجاز الدنا (DNA) وثلاثي فسفات الديوكسي ريبونوكليوزيد. وينقل هذا الجين الطافر في ناقل (حامل) تعبيري (Expression vector). وهو ناقل ذو طاقة تكاثر معززة) إلى موقع يقع تحت تأثير معزاز (Promoter) قوي ليعبر عنه (يترجج إلى إنزيم). ينقى الإنزيم الطافر بعد ذلك وتدرس خصائصه.

يمكن أن تسهل الأيونات الفلزَية (المعدنية) ربط الركيزة والتحفيز:

يحتوي أكثر من 25 ٪ من الإنزيمات أيونات فلزية (معدنية) إما مرتبطة بها بإحكام أو أنها ضرورية لعملها. وقد درست وظائف هذه الأيونات بتصوير البلورات بالأشعة السينية والتصوير بالرنين المغناطيسي (MRI) ورنين تدويم الإلكترون Electron Spin Resonance (ESR) ويلقي هذا، بالإضافة إلى معرفتنا بالمعلومات المتعلِّقة بتشكل المركبات الفلزّية وتفككها والتفاعلات الحاصلة ضمن الكرات التساهمية (Coordination spheres) للأيونات الفلزية، الضوء على أدوار الأيونات الفلزية في التحفيز الإنزيمي التي ندرسها فيما يلي.

تحوي الإنزيمات الفلزية (المعدنية) (Metalloenzymes) كمية محددة من الأيونات الفلزية الوظيفية التي تكون مرتبطة بها طوال عملية التنقية، بينما ترتبط الإنزيمات المنشطة بالفلزات (Metal-activated enzymes) بالفلزات بشكل أقل إحكاماً، ولذلك فهي تحتاج لفلزات مضافة كي تقوم بوظيفتها. وهكذا يرتكز التمييز بين الإنزيمات الفلزية والإنزيمات المنشطة بالفلزات على مدى الألفة بين الإنزيم وأيونه الفلزي. ويبدو أن آليات قيام الأيونات الفلزية بوظائفها متشابهة في الإنزيمات الفلزية والمنشطة بالفلز.

تؤثر المركبات الثلاثية مع الفلزات في التحفيز:

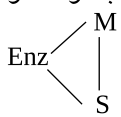
يمكن للمركبات الثلاثية (Ternary complexes) المكونة من المقر التحفيزي (Enz) وأيون فلزي (M) وركيزة (S) بنسبة رياضية كيميائية 1:1:1 أن تتخذ واحداً من أربعة أشكال:

مركب جسرُهُ الركيزة
Enz-S-M

مركب جسرُهُ الإنزيم
M-Enz-S

مركب بسيط جسره الفلز
Enz-M-S

مركب حلقي جسره الفلز



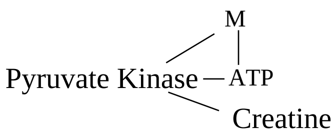
يمكن للإنزيمات المنشطة بالفلزات أن تأخذ أياً من هذه الأشكال؛ أما الإنزيمات الفلزّية فلا تستطيع تشكيل المركب EnzSM لأنها تستبقي الفلز طوال عملية التنقية (أي أنها تكون أصلاً بشكل EnzM). وهناك ثلاث عموميات يجب ذكرها هنا:

1– تشكل معظم الكينازات (ناقلة فسفات الأتب ATP) ـ ولكن ليس كلها ـ مركبات جسرها الركيزة من نمط إنزيم ـ نوكليوتيد ـ فلز (Enz-nucleotide-M).

2 – تشكل كل منناقلات الفسفات (الفسفوترانسفيراز) التي تستخدم البيروڤات أو الفسفوإينول بيروڤات كركيزة، والإنزيمات التي تحفز تفاعلات أخرى للفسفوإينول بيروڤات، والكربوكسيلازات مركبات جسرها الفلز.

3 – يمكن لإنزيم ما أن يشكل أحد أنماط المركبات السابقة مع ركيزة ما ونمطاً آخر مع ركيزة أخرى.

أ – المركبات ذات الجسر الإنزيمي(MEnzS): يفترض أن تقوم الفلزات في هذه المركبات بدور بنيوي يحافظ على هيئة (Conformation) نشطة [كمخلقة (سينثاز) الجلوتامين] أو أنها تشكل جسراً فلزياً إلى ركيزة ما (مثل كيناز البيروڤات). وبالإضافة لدوره البنيوي، يبدو أن الأيون الفلزي في كيناز البيروڤات يثبت الركيزة (ATP) في مكانها وينشطها.



ب – المركبات ذات الجسر الركيزي (EnzSM): يبدو أن تشكل هكذا مركبات بين ثلاثي فسفات النوكليوزيدات والإنزيم والفلز والركيزة يعود إلى إزاحة الماء (H_2O) ـ بواسطة الأتب (ATP) من الكرة التساهمية للفلز:

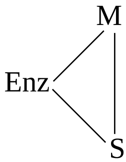
$$ATP^{4-} + M(H_2O)_6^{2+} \longleftrightarrow ATP - M(H_2O)_3^{2-} + 3H_2O$$

ثم يرتبط الإنزيم بعدئذ مشكلاً المركب الثلاثي:

$$ATP + M(H_2O)_6^{2+} + Enz \longleftrightarrow Enz - ATP - M(H_2O)_3^{2-}$$

يعتقد أن الأيونات الفلزّية، في تفاعلات نقل الفسفات، تنشط ذرات الفسفور، وتشكل مركباً صلباً من عديد الفسفات والأدينين بهيئة ملائمة في المركب الرباعي النشيط.

جـ – المركبات ذات الجسر الفلزي:

Enz-M-S أو 

أثبتت معطيات تصوير البلورات بالأشعة السينية والسلسلة (Sequencing) أن ربط الفلز بالمقر الفعال لكثير من البروتينات منوط بثمالة الهيستيديل (كما هو الحال في الكربوكسي ببتيداز A والفسفاتاز القلوية والفسفوليباز C والروبريدوكسين والبروتينات الحاوية على الهيم كالميوجلوبين والهيموجلوبين؛ انظر الفصل 7). وتكون الخطوة المحددة لسرعة التفاعل في حالة المركبات EnzM الثنائية (مكونان) هي، في كثير من الحالات، مغادرة الماء للكرة التساهمية للأيون الفلزي. ويكون التنشيط بالأيونات الفلزية بالنسبة للكثير من إنزيمات الببتيداز عملية بطيئة تستغرق عدة ساعات؛ ومن المحتمل أن يكون التفاعل البطيء مراتبة (Rearrangement) هيئة المركب الثنائي EnzM إلى هيئة نشيطة، مثال:

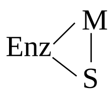
ـ ربط الفلز:

$$Enz + M(H_2O)_6 \xrightarrow{\text{سريع}} Enz - M(H_2O)_{6-n} + nH_2O$$

ـ المراتبة إلى الهيئة النشطة (*Enz):

$$Enz + M(H_2O)_6 \xrightarrow{\text{بطيء}} Enz - M(H_2O)_{6-n} + nH_2O$$

ويجب ـ على كل حال ـ أن يجري ضم الركيزة (S) إلى المركب الثنائي EnzM في حالة الإنزيمات الفلزّية لكي يتشكل المركب الثلاثي ذا الجسر الفلزي:

$$Enz - M + S \longrightarrow Enz - M - S \text{ or }$$ 

تقوم الأيونات الفلزية بعدة أدوار في التحفيز:

يمكن أن تشارك الأيونات الفلزية في أي من الآليات الأربعة التي تسرع بها الإنزيمات معدل التفاعلات الكيميائية: (1) التحفيز الحمضي القاعدي العام، (2) التحفيز التساهمي (Covalent)، (3) تقريب المتفاعلات، (4) تحريض الإجهاد (Strain) في الإنزيم أو الركيزة.

أكثر الأيونات الفلزية المشاركة بالتحفيز الإنزيمي هي الحديد والمغنيزيوم والكوبالت (في تميم الإنزيم B_{12}) والمنجنيز. وفي حين أن معظم هذه الفلزات موجود بشكل كاتيونات (هوابط) ثنائية التكافؤ (مثل Mg^{2+})، فإن الحديد والمنجنيز خاصة يمكن أن يخضعا لتغيرات في حالتهما الأكسدية خلال التفاعلات التي تنقل فيها الإلكترونات بين الركائز. وتوجد الفلزات التي تخضع لتغيرات الأكسدة والاختزال عموماً في مجموعات ضميمة متخصصة كالهيم أو عناقيد الحديد والكبريت (Iron-sulfur clusters).

الأيونات الفلزية ـ كالبروتونات ـ هي من أحماض لويس (Lewis acids) (أليفة للإلكترونات (Electrophiles))، ويمكن ان تشارك بزوج من الإلكترونات لتشكل رابطة سيجما (Sigma bond). ويمكن أيضاً اعتبار الأيونات الفلزية من «فوق الأحماض» (Super acids) لأنها توجد في المحلول المتعادل حاملة غالباً لشحنة إيجابية أكبر من 1 ويمكن أن تشكل روابط. وبالإضافة لذلك (وخلافاً للبروتونات)، يمكن للفلزات أن تستخدم كمراصف (Templates) ثلاثية الأبعاد لتوجيه المجموعات القاعدية على الإنزيم أو الركيزة.

يمكن للأيونات الفلزية أيضاً أن تتقبل الإلكترونات بواسطة الروابط σ أو π لتنشط أليفات الإلكترون أو أليفات النوى (Nucleophiles) (التحفيز الحمضي القاعدي العام). وتستطيع الفلزات بمنحها الإلكترونات أن تنشط أليفات النوى أو تعمل هي بذاتها كأليفات للنوى. ويمكن للكرة التساهمية لفلز ما أن تقرب ما بين الإنزيم والركيزة (التقريب) أو تشكل انفتالاً محدثاً للاستخلاب (Chelation) في الإنزيم أو الركيزة (جهد). كما يمكن لأيون فلزي أيضاً أن «يحجب» (Mask) مركباً أليفاً للنواة ويمنع نتيجة ذلك حدوث تفاعلات جانبية. وأخيراً، يمكن الحصول على

التحكم الكيميائي الفراغي بمسيرة التفاعل المحفز بالإنزيم من خلال قدرة الكرة التساهمية الفلزية على العمل كمرصاف ثلاثي الأبعاد للمحافظة على المجموعات المتفاعلة في توجه فراغي محددّ (الجدول 10-1).

الإنزيم	دور الأيون الفلزي
نازعة أمين الهيستيدين	حجب أحد أليفات النوى
كينازات، ليازات (Lyases)، نازعة كربوكسيل البيروڤات	تنشيط أحد أليفات الإلكترونات
الأنهيدراز الكربونية	تنشيط أحد أليفات النوى
إنزيمات الكوباميد	يعمل الفلز كأليف للنواة
كربوكسيلاز البيروڤات، كربوكسي ببتيداز، نازعة هيدروجين الكحول	سحب إلكترونات الرابطة π
بروتينات الحديد غير الهيمية	منح إلكترونات الرابط π
كيناز البيروڤات، كربوكسيلاز البيروڤات، كيناز الأدينيليل	يجمع الأيون الفلزي اللجائن* ويوجهها
ناقلة الفسفات، مصاوغة D– زيلور، الهيموبروتينات	تأثيرات إجهادية

جدول 10-1 : أمثلة منتقاه لأدوار الأيونات في آلية عمل الإنزيمات.

[اللجين (جمعه لجائن) Ligand = جزيء يلتحم بجزيء آخر].

الخلاصة:

يوضح إنزيم بروتياز الكيموتربسين (CT) الكثير من الملامح العامة للتحفيز الإنزيمي؛ وتتضمن هذه الملامح تشكيل المتوسطات المرتبطة بالإنزيم (CT-PNPA و CT-Ac)، والطبيعة التدريجية للتحفيز (ثلاث تفاعلات جزئية)، والخاصة المحددة لسرعة التفاعل لأحد التفاعلات الجزئية (حلمهة CT-Ac)، والإطلاق المتتابع للنواتج (الفينول يليه الأسيتات). ولقد وضحت وظائف بعض الأحماض الأمينية في المقر التحفيزي بدور ثمالة السيرين 195 (Ser 195) كمتقبل للمجموعة (-Ac) الخاضعة للنقل إلى الماء، وبأدوار الثمالات الخاصة: Serو His و Asp في تشكيل شبكة ترحيل الشحنات. وتوضح شبكة الترحيل هذه أيضاً أن ثمالات الأحماض الأمينية البعيدة عن بعضها في البنية الأولية (السيرين 195 و الهيستيدين 57 والأسبارتات 102) يمكنها أن تشكل أجزاء متجاورة من المقر التحفيزي للإنزيم. ويشكل حل البروتين الانتقائي لطليعة الإنزيم العاطلة «مولد الكيموتربسين» المقر الفعال للكيموتربسين، ويحضر الثمالات الثلاثة التي تكون مركب ترحيل الشحنات إلى ضمن مجال تشكيل الروابط لكل منها.

يمكن لثمالات المقر التحفيزي أن تعمل كالأحماض عامة (Asp ،Glu) أو كقواعد عامة (His ، Arg ، Lys) خلال التحفيز. ويمكن أن تحدث إضافة الركائز وإطلاق النواتج بطريقة مرتبة أو عشوائية. ويتقدم التفاعل في آلية البينج ـ بونج (مثل نقل الأمين) عبر أحداث متناوبة من إضافة للركيزة وإطلاق للناتج.

تسهل الأيونات المعدنية ربط الركيزة والتحفيز بتشكيل عدة أنماط من المركبات الجسرية للإنزيم والمعدن (الفلز) والركيزة؛ ويمكن أن تعمل الأيونات كحفازات حمضية عامة، أو أن تسهل تقريب المتفاعلات.

*** References**:

Coleman JE: structure and mechanism of alkaline phosphatase. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 1992;21;441.

Ferst A: *Enzyme Structure and Mechanism*. 2nd ed. Free man .1985.

Freeman RB. Hawkins HC (editors): *The Enzymology of post-translation of Proteins*. Academic Press, 1985.

Mildvan AS: *Metals in enzymes*, 3rd ed. Vol 2. Academic Press, 1970.

Purich DL (editor): *Enzyme Kinetics and mechanisms.* Parts A and B In: Methods in Enzymology. Vol 63. 1979;Vol 64, 1980. Academic Press.

Regan L: The design of metal binding sites in proteins. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 1993; 22;257.

* انظر أيضاً مراجع الفصل 7 و 8.

الفصل الحادي عشر

الإنزيمات: تنظيم الأنشطة

Enzymes: Regulation of Activities

مقدمة:

سيتم في هذا الفصل ـ ومن خلال أمثلة منتقاة ـ إلقاء الضوء على آليات التحكم بالعمليات الأيضية وغيرها بتبديل كمية الإنزيمات أو كفاءتها التحفيزية؛ والهدف من ذلك هو تمييز الطرز الإجمالية للتنظيم. وستجد ضمن الكتاب العديد من الأمثلة النوعية الإضافية لتوضيح الخصائص المتنوعة لتنظيم الأيض.

الأهمية الطبية البيولوجية:

يتطلب البقاء في بيئة ديناميكية وخطرة أحياناً أن يكون الكائن الحي (والخلايا التي تكونه) قادراً على تنسيق العمليات الأيضية بدقة وتنظيمها استجابة للعوامل الداخلية والخارجية وثيقة الصلة. ويلعب تنظيم الإنزيمات دوراً رئيسياً في الاستتباب (Homeostasis) (المحافظة يوماً بيوم على نشاط أيضي متوازن وبناء) وكذلك في تحديد توقيت العمليات طويلة الأمد وطبيعتها (كانقسام الخلايا وتمايزها) التي تؤثر في نمو الكائن الحي وتطوره. وتعد آليات تحسس الخلايا للمتغيرات البيئية الهامة وتفاعلها معها ذات أهمية بالغة للعاملين في العلوم الطبية الحيوية ابتداء من علم الغدد الصم وتأثيرات الأدوية حتى السرطان وكبر السن (التشيخ)

(Aging)؛ وقد عرف أن حالات خلل الوظيفة التنظيمية الناتج من العوامل الممرضة أو الطفرات الوراثية تلعب دوراً في بدء أشكال عديدة من السرطان أو ترقيها وكذلك في بعض أشكال الداء السكري. كما ثبتت مساهمتها في التليف الكيسي وداء ألزهايمر.

لا غنى عن الإنزيمات لتحفيز التغيرات الكيميائية والفيزيائية في الخلايا، وهكذا يحتل تنظيم النشاط الإنزيمي موقعاً أساسياً في مسيرتنا لفهم ديناميكية تنظيم الخلايا الحية السليمة (الصحة) وحالات خلل الوظيفة التنظيمية المتعلقة بالمرض. ويمكن لاختلال تنظيم النشاط الإنزيمي أن يحدث آثاراً حادة على الأيض الخلوي، وكذلك تغيرات طويلة الأمد في طراز تعبير الجينات، العملية التي تقودها الإنزيمات وتتحكم بها بشكل جوهري. ويهاجم العديد من العوامل الممرضة عناصر شبكات التنظيم الخلوي، إما بإدخال إنزيمات تنظيمية غريبة «تطغى على» آليات التحكم السوي، أو بتعطيل أقسام أجهزة الاستجابة الحسية للخلية، مما يؤدي بها إلى تجاهل الإشارات الخاصة المؤثرة فيها، أو أن تصبح منشطة بغياب المثير البيئي الملائم. وتغزو جرثومة اليرسنية الطاعونية *(Yersinia pestis)* (العامل المسبب للطاعون خلال العصور الوسطى) خلايا ضحيتها من خلال بروتين فسفاتاز التيروزين الذي يحلمه مجموعات الفسفوريل المؤسترة في الحالة السوية لثمالات التيروزين ضمن البروتينات المفتاحية مبدلاً خصائصها التحفيزية والوظيفية الأخرى، وهذا يمثل خطوة أساسية لهذه الأذية التي غالباً ما تكون مميتة.

وترمز العديد من الڤيروسات المسرطنة بروتينات إنزيمية من نوع كيناز تيروزين البروتين (Protein-tyrosine kinase) وعندما تعبر عن نفسها في الخلايا، تفسفت (Phosphorylate) هذه الكينازات ثمالات التيروزين على الإنزيمات التي تساهم في الشلالات التنظيمية المسؤولة عن التحكم بعوامل انتساخ الجينات. ويؤدي التنشيط التالي لعوامل النسخ الهامدة في الحالة السوية إلى تبدّلات في طراز تعبير الجينات مما يساهم بشكل أساسي في بدء السرطان وترقيه. ويعطل ذيفان ضمة الكوليرا (العامل المسبب للكوليرا) سبل الاستجابة الحسية السوية في الضحية؛ ويعدِّل ذيفان الكوليرا تساهمياً (بإدخال مجموعة أدينيليل إلى الجزيء (Adenylylation) بعض البروتينات G التي تربط العديد من المستقبلات الخلوية السطحية بالإنزيمات

داخل الخلايا التي تقوم بتنظيمها. ويؤدي ضم الأدينيليل إلى أحد البروتينات G في الخلايا الظهارية المعوية إلى تنشيط مزمن غير متحكم به لحلقة الأدينيليل مثيراً جرياناً مستمراً للماء إلى تجويف الأمعاء. ويؤدي الإسهال الشديد الناتج إلى الجفاف والموت.

تؤدي الكثير من الأدوية عملها عن طريق تثبيط النشاط الإنزيمي. فحالات فرط كوليسترول الدم العائلي مثلاً تعالج بمركبات كاللوفاستاتين الذي يحصر تخليق الكوليسترول بتثبيط إنزيم مختزلة 3 ـ هيدروكسي ـ 3 ـ ميثيل جلوتاريل التميم الإنزيمي A (HMG CoA reductase). ويؤثر العديد من المضادات الحيوية المستعملة لمكافحة العدوى الجرثومية من خلال تثبيطه ـ بشكل نوعي ـ للإنزيمات الأساسية لنمو المراضات (العوامل الممرضة (Pathogens)) وتنسخها؛ فالبنسيلين مثلاً يثبط إنزيماً ضرورياً لتخليق جدران الخلايا الجرثومية، في حين يثبط الستربتوميسين نشاط الريباسات الجرثومية حاصراً تخليق البروتين فيها. وتحرض (Induce) بعض الأدوية تخليق الإنزيمات المسؤولة عن معالجتها (Processing) وتدركها؛ وغالباً ما تكون المعالجة هذه ضرورية وأساسية لتحويل الدواء إلى شكله الفعال فيزيولوجياً، ويمكن لتحريض تخليق مثل هذه الإنزيمات بدواء ما أن يكون ذا آثار كبيرة على معالجة أو تدرك دواء آخر، وهذا سبب مهم لتآثرات الأدوية (الفصل 16).

يحقق تنظيم الأيض الاستتباب:

يؤكد مفهوم تنظيم استتباب (Homeostasis) الوسط الداخلي الذي اقترحه برنارد في أواخر القرن التاسع عشر على قدرة الحيوانات على المحافظة على ثبات بيئاتها داخل الخلوية رغم التغيرات في البيئة الخارجية. ويتضمن هذا المفهوم قيام الخلية أو الكائن الحي ـ وخلال فترات ممتدة من الزمن ـ بإنجاز حالة مستقرة (Steady state) تكون فيها كمية كالوريات المغذيات المأخوذة تكافئ الطاقة المصروفة، ومقدار الحرارة المتولدة تكافئ تلك المتبددة، وكمية كتل البناء الجزيئي المنشأة تكافئ تلك المطروحة أو المتدركة... إلخ. كما يتضمن هذا المفهوم أيضاً أن الخلايا تستجيب لتحدِّيات البيئة، كالحرارة أو الحموضة أو توفر المعادن والمغذيات، بطريقة تحافظ

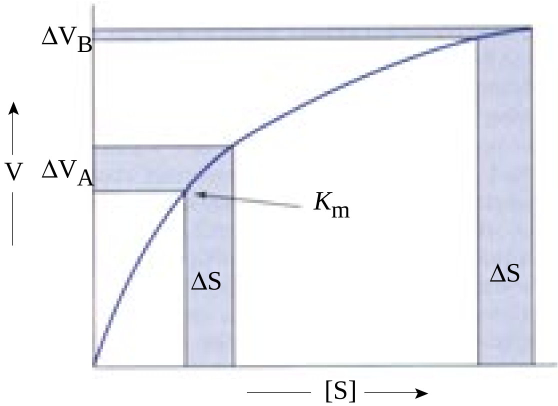
على حالة داخلية مستقرة أو تعيدها إليها. ويقبع أساس إنجاز هذا الاستتباب والمحافظة عليه في توازن معدلات التفاعلات المحفزة بالإنزيمات تنسيقها وتعاونها بدقة، وفي استجابة هذه المعدلات لتغيرات البيئة الخارجية والداخلية للخلايا. ويمكن تعريف مرض الخلية أو الكائن الحي على أنها الحالة التي تكون فيها استجابته لإشارة داخلية أو لكرب (Stress) خارجي غير كافية أو خاطئة. وللحقيقة، فإن معرفة العوامل المؤثرة في معدل التفاعلات المحفزة بالإنزيمات أساسية لفهم كل من آلية الاستتباب في الخلايا السوية والأساس الجزيئي للمرض.

يمكن لتنظيم جريان المتأيضات (المستقبلات) والعمليات الخلوية الأخرى أن يكون فاعلاً إيجابيا (Active) أو منفعلاً سلبيا (Passive):

نقول ثانية إن قيمة الثابتة K_m هي تركيز الركيزة الذي تجري عنده عملية التحفيز بنصف سرعتها الأعظمية الممكنة. وتقع قيمة هذه الثابتة لكل إنزيم عند متوسط تركيز ركيزته داخل الخلية الحية في الحالة المستقرة أو قريباً منه. وقد يبدو للوهلة الأولى أن عدم استعمال السعة التحفيزية القصوى لكل جزيء إنزيمي في كل الأوقات هو ضرب من الإسراف! ولكن، وعلى أية حال، فإن تطوير إنزيمات توافق قيم ثابتتها K_m المستوياتِ النموذجية لركائزها أمن وسيلةً جاهزة لضبط (Adjusting) جريان المُستقلبات عبر كل تفاعل خاص مستقل بذاته. فبالنسبة لمعظم الإنزيمات التي تبدي حرائك ميكاليس ـ منتن (الفصل 9)، سيزداد معدل التفاعل والتدفق (Flux) عبر خطوة خاصة محفزة بإنزيم يعمل عند تركيز للركيزة قرب قيمة ثابتَتِه K_m بشكل متوافق مع ارتفاع تركيز الركيزة، وكذلك سينقص المعدل والجريان في هذه الحالة بشكل متوافق مع نقص تركيز الركيزة (وهذا واضح في الشكل 11-1). ويساعد هذا الضبطُ الآلي لمعدل التفاعل استجابة لتغيرات مستويات الركيزة في المحافظة على جريان المتأيضات المتوازن والضروري للاستتباب. وبالمقابل، فإنه لا يمكن ضبط معدل سرعة إنزيم مصمم للعمل بسرعته القصوى ـ أي أن ثابتة K_m أخفض بكثير من التركيز الفيزيولوجي الوسطي لركيزته ـ بتغيير تركيز ركيزته؛ لكن تبقى، بالنسبة لمثل هذا الإنزيم، إمكانية إنقاص معدل التفاعل

بإنقاص تركيز الركيزة الذي يحصل فقط عندما تنخفض مستويات الركيزة بشكل سريع!

تمثل الاستجابات الحركية البسيطة للتغيرات في مستويات الركيزة وسيلة هامة، ولكنها منفعلة لتنظيم النشاط الإنزيمي. وهي مفيدة للغاية لتنسيق جريان المستقلبات في خلية هامدة، غير أنها تقدم شرحاً قليلاً للاستجابة بطريقة فعالة إزاء متغيرات البيئة. ونركز فيما تبقى من هذا الفصل على الآليات المستعملة لتنظيم النشاط الإنزيمي بطريقة فعالة استجابة للإشارات الداخلية والخارجية ذات العلاقة.



الشكل 11-1 : استجابة معدل تفاعل محفز إنزيمياً (V) لتغير تركيز الركيزة [S]عندما يعمل الإنزيم عند الثابتة K_m الخاصة به، أو أعلى كثيراً منها.

يؤمن التحاوز (Compartmentalization) الكفاءة الأيضية وييسر التنظيم:

تجري في الخلية الحيوانية آلاف التفاعلات المحفزة بالإنزيمات؛ وتعد معرفة البناء الأساسي للسبل الأيضية ضرورية لفهم كيفية قيام الخلايا بالتحكم بهذه الماكينة الكيميائية الهائلة وتنسيقها. ويمكن تحقيق التنظيم بطريقة فعالة واقتصادية من خلال تهديف (Targeting) إنزيمات محددة للمعدل (Rate-limiting) محفزة لخطوات مفتاحية ومتحكمة (Committed steps) إلى سبل أيضية ابتنائية (Anabolic) وتقويضية (Catabolic) وحيدة الاتجاه.

يميل جريان المتأيضات لأن يكون وحيد الاتجاه:

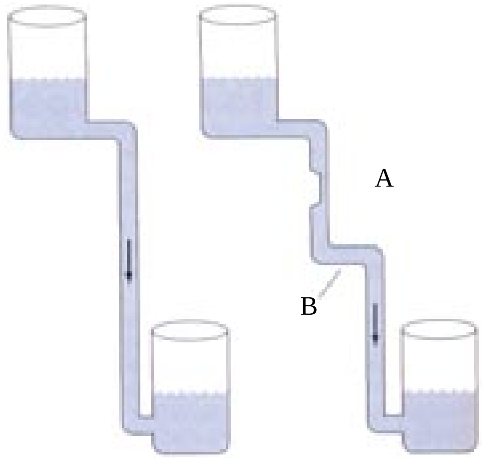
إن كل التفاعلات الكيميائية ـ بما فيها تلك المحفزة بالإنزيمات ـ عكسية (Reversible) إلى حد ما [1]. ولكن نادراً ما يحصل مثل هذا الجريان العكسي ضمن الخلايا الحية لأن نواتج التفاعل لا تتراكم هناك بل تستهلك فوراً أو تنزح بعيداً بتفاعلات إنزيمية أخرى تستخدم فيها هذه «النواتج» كركائز. وهذا يعني أنه حتى الإنزيمات المحفزة لتفاعلات قيم ΔG الخاصة بها قريبة من الصفر ـ كإنزيمات المصاوغة (Isomerases) والموتاز (Mutases) ـ غالباً ما تتقدم باتجاه واحد داخل الخلية. ويعمل نزح النواتج باتجاه مجرى التفاعل بواسطة التفاعلات المحفزة إنزيمياً على ربط خطوات السبيل الأيضي بحيث يسحب تغير الطاقة الحرة التراكمي الناتج جريان المتأيضات في اتجاه وحيد. ويشبه جريان المتأيضات عبر سبل الابتناء والتقويض في الخلايا الحية بجريان الماء عبر الماسورة، فرغم أن الماسورة مؤهلة فيزيائياً لنقل الماء في كلا الاتجاهين، إلا أنه إذا كانت إحدى النهايتين أخفض من الأخرى (وهذا مماثل للفرق الكبير في الطاقة الحرة) سيكون الجريان عملياً في اتجاه واحد حكماً؛ وحتى لو كان للماسورة حنيات (Bends) أو لَوْيات (Kinks) وهذا مماثل لخطوات خاصة محفزة بإنزيمات ذات قيم ΔG صغيرة أو غير ملائمة إلى حد ما)، فإن الجريان عبر الماسورة سيبقى وحيد الاتجاه استناداً إلى الفرق الإجمالي الصافي الكبير في الارتفاع، ويماثل هذا الفرق تغير قيمة الطاقة الحرة في السبل الأيضية (الشكل 11-2).

وهكذا، فالتوازن الحقيقي ـ حيث يحصل جريان ثنائي الاتجاه ـ ليس من خصائص الحياة، بل تصل إليه الخلية فقط عندما تموت. وتعد الخلية الحية جملة ديناميكية مستقرة (الشكل 11-3) تبقى فيها التراكيز الوسطية للمتأيضات المستخدمة كمتوسطات في سبل وحيدة الاتجاه، ثابتة عبر المسافات الممتدة من الزمن. ولكن تحصل تذبذبات قصيرة الأمد لتراكيز المتأيضات ولمستويات الإنزيمات على كل حال، وهي ذات أهمية فيزيولوجية كبيرة.

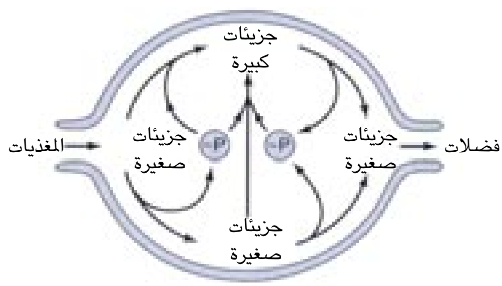
---

[1]– تكون القيمة العددية لتغير الطاقة الحرة (DG) للتفاعل العكسية بسهولة صغيرة، أما إذا كان لها قيمة سلبية كبيرة فيوصف التفاعل بأنه غير عكسي فعلياً، وهذه هي الحال في معظم التفاعلات الكيميائية الحيوية.

إن الطبيعة وحيدة الاتجاه للسبل الأيضية تجعلها نوعية وظيفياً. ونظراً لأن معظمها يقوم بوظيفة أيضية متخصصة منفردة، فإنه يمكن تحقيق التنظيم في هذه السبل دون التأثير في جريان المتأيضات الأخرى بشكل مناوئ (Adversely).



الشكل 11-2 : جريان المتأيضات عبر سبل ذات تغيرات إجمالية كبيرة فيΔG، وهو ـ كجريان الماء عبر الماسورة ـ وحيد الاتجاه. في الأيمن: مخطط «لسبيل» ذي خطوة محددة للمعدل (A) وخطوة ذات قيمة ΔG قريبة من الصفر (B).



الشكل 11-3 :خلية مثالية في حالة مستقرة. لاحظ أن جريان المتأيضات وحيد الاتجاه.

لتكون فعالة وذات كفاءة، يجب أن تكون السبل الأيضية المتعارضة (المُتعاكسة) منفصلة:

تحتوي الخلايا على كل من سبل التقويض أو التدرك (Catabolic) التي تفكك الجزيئات البيولوجية المعقدة منتجة لبنات البناء الجزيئية الأساسية والطاقة، وسبل الابتناء (Anabolic) التي تجمع هذه اللبنات البنائية في كيانات كيميائية أكبر كالبروتينات والرنا النقال والشحميات الفسفورية. وغالباً ما تستخدم هذه السبل الابتنائية الطاقة الخلوية لتأمين قوة التسيير الثرموديناميكية الضرورية لجعلها تلقائية. ولأن كلا العمليات الابتنائية والتقويضية ليست فعالة 100٪ من الناحية الثرموديناميكية، فسيحصل فقد مهم للطاقة والمواد كما هي الحال مثلاً في حلمهة جزيء من الرنا المرسال مخلق جزئياً إلى الأحماض النووية المكونة له بواسطة الريبونوكليازات. إضافة لذلك، يجب أن تحتوي الخلايا على الريبونوكليازات إذا كانت ستعيد استعمال مكونات جزيئات الرنا المرسال عندما لا تعود بحاجة إليها. وهكذا، فمن المفضل فصل أو تحاوز السبل الابتنائية والتقويضية المتعارضة. ويتحقق التحاوز في كثير من الحالات بوسائط فيزيائية. ففي الخلايا حقيقية النوى، يوجد الكثير من الإنزيمات التدركية للبروتينات وعديدات السكاريد ضمن حويصلات متخصصة مفصولة بغشاء شحمي عن باقي الخلية تدعى اليحلولات (الجسيمات الحالة: Lysosomes). ويحصل التخليق الحيوي للأحماض الدهنية في العصارة الخلوية، في حين تحدث أكسدة الأحماض الدهنية ضمن حدود المتقدرات (Mitochondria) وقد توسع مفهوم التحاوز الفيزيائي لأبعد من ذلك في الأحياء عديدة الخلايا بفصل (Segregation) بعض السبل الأيضية ضمن أنماط خلوية متخصصة.

وهناك شكل ثان للتحاوز يتحقق من خلال الاستفادة من النوعية العالية للإنزيمات تجاه ركائزها؛ فليست السبل التقويضية مجرد عكس تام للسبل الابتنائية. ولو كانت هذه هي الحال لكان واحداً فقط منهما تلقائياً من الناحية الثرموديناميكية، حيث يجب أن تكون قيمة ΔG للسبيل المعاكس بشكل تام مساوية في المقدار ومعاكسة في الإشارة. ولذلك تتبع سبل البناء والتقويض مسارات كيميائية منفصلة ومتميزة وعفوية من الناحية الثرموديناميكية وتستخدم متوسطات

أيضية خاصة. وتكون حلمة البروتينات إلى الأحماض الأمينية عفوية من الناحية الثرموديناميكية. ويجب أن يقرن تجميع الأحماض الأمينية في بروتينات مع حلمهة الأتب (ATP) لإنشاء سبيل منفصل وملائم من الناحية الترموديناميكية. وينشئ استعمال سبل مميزة كيميائياً تمتلك متوسطات خاصة بها التحاوز الكيميائي حيث لا توجد حواجز فيزيائية؛ فمثلاً تستعمل سبل أكسدة المغذيات لإنتاج الطاقة عبر دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل (TCA cycle) وسلسلة نقل الإلكترونات الناد (NAD (H)) كحامل للإلكترونات، أما الإلكترونات الضرورية لخطوات الاختزال (Reduction) في الكثير من سبل التخليق الحيوي فتحمل على النّاد المُفَسفَت (NADP (H)) وتفصل هذه المقدرة الإنزيمية الدقيقة على تمييز هذين الجزيئين الكبرويين المتشابهين جريان الإلكترونات المخصصة لتوليد الأتب (ATP) عن جريان الإلكترونات المعدة لعملية التخليق الحيوي.

يمكن التحكم بسبيل أيضي كامل عن طريق خطوة متحكمة مفردة:

إن الخلايا مقرات لآلاف التفاعلات المحفزة بالإنزيمات، فكيف يتم تنسيق كل هذه التفاعلات وضبطها لتحقيق الاستتباب؟ بانتقاء واحد أو أكثر من الإنزيمات التي تحفز إحدى الخطوات المتحكمة في السبيل، سهلت الطبيعة مهمة التحكم بتنظيم الجريان عبر كامل السبيل من خلال إنزيم وحيد. والخطوة المتحكمة هي تلك التي يكون ناتج تفاعلها خاصاً بذلك السبيل، أي أن الإنزيم الوحيد الذي يستخدم ذلك المركب كركيزة له هو الذي يحفز الخطوة التالية في السبيل. ويمثل تخليق مالونيل التميم A الخطوة المتحكمة الأولى في التخليق الحيوي للحمض الدهني (الفصل 23)، ولمالونيل التميم A مصير أيضي ممكن واحد فقط. وفي حال تثبيط كربوكسيلاز أسيتيل التميم A ـ الإنزيم المسؤول عن تخليق مالونيل التميم A ـ فإن كل الخطوات اللاحقة في هذا السبيل ستفقد سريعاً ركائزها وتقف. وهكذا، يمكن التحكم بالمعدل الصافي للتخليق الحيوي للحمض الدهني بإنزيم رئيس مفرد. وبتوسيع هذا المبدأ إلى عمليات أيضية أخرى، فقد سهلت الطبيعة كثيراً مهمة التنظيم.

يكون التنظيم أكثر فعالية إذا كان الإنزيم يحفز خطوة محددة للمعدل:

تتضمن السبل الأيضية سلاسل من التفاعلات المحفزة بالإنزيمات التي يمكن تشبيهها بخطوط تجمع الجزيئات الحيوية وتفكيكها. وتمتلك كل خطوة في السبيل قدرة تحفيزية إجمالية محددة ومساوية لعدد جزيئات الإنزيم مضروباً في كفاءته التحفيزية الموروثة. وفي حين يوقف الإحصار (Blocking) التام لأية خطوة محفزة إنزيمياً في سبيل ما التدفق عبر السبيل بمجمله، فإنه غالباً ما يكون مرغوباً إبطاء معدل الجريان أو تسريعها في بعض الحالات. ولتحقيق ذلك فمن الضروري استهداف التنظيم لإنزيم تستطيع كميته أو كفاءته النسبية أن تجعل الخطوة التفاعلية التي يحفزها أبطأ نسبة إلى غيرها.

وتعرف نقطة الإعاقة هذه باسم الخطوة المحددة للمعدل (Rate-limiting step). وبتثبيط الكفاءة التحفيزية للإنزيم المحفز لمثل هذه الخطوة أو إنقاص كميته، يمكن إحداث نقص فوري في التدفق عبر كامل السبيل. والأكثر أهمية أن زيادة السعة التحفيزية للخطوة المحددة للمعدل تؤدي بالضرورة إلى زيادة الجريان عبر السبيل إجمالاً. وتعمل الإنزيمات التي تحفز الخطوات المحددة للمعدل في السبل الكيميائية الحيوية كموجهات طبيعية للجريان الأيضي، وبذلك تمثل أكثر الأهداف أهمية وكفاءة للعملية التنظيمية.

ينجز التنظيم الفاعل للسعة التحفيزية بآليتين عامتين:

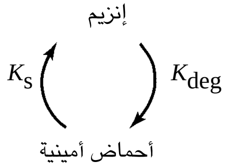
تساوي السعة التحفيزية للخطوة المحددة للمعدل في سبيل أيضي محصلة جداء تركيز جزيئات الإنزيم بكفاءته التحفيزية الذاتية؛ ولذلك يمكن أن تتأثر السعة التحفيزية بتغير أي من كمية الإنزيم الموجود أو كفاءته التحفيزية الذاتية.

تنظيم كمية الإنزيم:

تحدد معدلات التخليق والتدرك كمية الإنزيم:

تتحدد الكمية المطلقة للإنزيم بمعدل تخليقه (K_s) ومعدل تدركه (K_{deg}) (الشكل

4-11). ويمكن زيادة كمية إنزيم ما في خلية ما إما بزيادة معدل تخليقه (زيادة K_s) أو بنقص معدل تدركه (نقص K_{deg}) أو بكليهما. وبشكل مشابه، يمكن أن تنخفض كمية الإنزيم بنقص K_s أو بزيادة K_{deg} أو كليهما. وهناك أمثلة على تغيرات كل من K_s و K_{deg} في الإنسان. وفي كل أشكال الحياة، يكون تخليق الإنزيم من الأحماض الأمينية وتدرك الإنزيم إلى الأحماض الأمينية عمليتين منفصلتين تماماً ومحفزتين بمجموعات إنزيمية مختلفة كلياً؛ وبذلك يتحقق التنظيم المستقل لتخليق الإنزيم وتدركه تلقائياً (الشكل 11-4).



الشكل 11-4 : تتحدد كمية الإنزيم بالتوازن الصافي بين تخليق الإنزيم وتدركه. (K_s) و (K_{deg}) هما ثابتتا معدّل التخليق والتّدرك على التوالي.

تنَبُّه المحرضات تخليق الإنزيم:

تستطيع الخلايا تخليق الإنزيمات النوعية استجابة لمحرضات (أو محدثات (Inducers)) نوعية منخفضة الوزن الجزيئي؛ فمثلاً لن تقوم الإشريكية القولونية النامية على الجلوكوز بتقويض اللاكتوز بسبب غياب الإنزيم بيتا ـ جالاكتوزيداز الذي يحلمه اللاكتوز إلى جالاكتوز وجلوكوز. أما إذا أُضيف اللاكتوز أو بعض الجالاكتوزيدات بيتا الأخرى إلى مستنبت النمو، فإن تخليق إنزيمي البيتا ـ جالاكتوزيداز وبيرمياز الجالاكتوزيد يتحرض وتستطيع بعدها المزرعة أن تقوض اللاكتوز.

رغم أن الكثير من المحدثات هي ركائز للإنزيمات التي تحدثها، فإنه يمكن لمركبات مشابهة بنيوياً للركيزة (ولكنها ليست ركائز) أن تقوم بالمهمة نفسها وتدعى بالمحرضات الفضولية (Gratuitous inducers) الاعتباطية. وبالعكس، يمكن لمركب ما أن يكون ركيزة، ولكنه ليس محدثاً. وكثيراً ما تحرض المحدثات عدة إنزيمات لسبيل تقويضي (فمثلاً يتحرض كل من بيرمياز البيتا ـ جالاكتوزيد والبيتا ـ جالاكتوزيداز باللاكتوز).

تدعى الإنزيمات التي يكون تركيزها في الخلية مستقلاً عن المحرضات المضافة إنزيمات بنيوية (Constitutive). ويمكن لإنزيم ما أن يكون بنيوياً في ذرية ما وقابلاً للتّحريض في أخرى وغائباً تماماً في ثالثة. وتحوي الخلايا القابلة للتحريض على تركيب إنزيم ما كميات صغيرة قابلة للقياس من ذلك الإنزيم في الحالة الأساسية حتى في ظل غياب المحرض المضاف. ويحدد التراث الوراثي للخلية كلاً من طبيعة الاستجابة للمحرض ومقدارها؛ وبذلك فإن تعبيري «بنيوي» و «قابل للتحريض» هما مصطلحان نسبيان مثل «حار» و «بارد»، ويمثلان الحدود القصوى لمجال الاستجابات.

يحصل تحريض الإنزيم أيضاً في حقيقيات النوى. ومن الأمثلة على الإنزيمات القابلة للتحريض في الحيوانات: بيرولاز التريبتوفان، ديهيدراز الثريونين، ناقلة أمين التيروزين لألفا كيتوجلوتارات، الإنفرتاز، إنزيمات دورة اليوريا، مختزلة HMG-CoA، السيتوكروم P450.

تكظم النواتج النهائية تخليق الإنزيم:

يمكن لوجود متأيض (مستقلب) ـ مخلق حيوياً ـ في مستنبت نمو الجراثيم أن يمنع التخليق الجديد لذاك المُتأيض بآلية الكظم (Repression). ويتضمن كل من التحريض والكظم عناصر مقرونة (*Cis* elements) (متواليات دنا (DNA) نوعية متوضعة أعلى الجينات التي ترمز إنزيماً ما) وبروتينات تنظيمية مفروقة الفعل (Trans-acting)) إضافة لذلك، تعمل متأيضات نوعية بشكل تمائم الكاظمات (Corepressors) أو تمائم المحرضات (Coinducers). وهي تقوم عند ارتباطها

ببروتين مفروق الفعل إما بتعزيز ارتباطه بالعنصر المقرون أو إضعافه. وهكذا، يمكن للمستويات المرتفعة داخل الخلية لمتأيض ما (كالبورين أو الحمض الأميني) أن تحصر تخليق الإنزيمات المساهمة في تخليقه هو؛ فمثلاً تكظم إضافة الهيستيدين في السلمونيلة التيفية الفأرية تخليق كل إنزيمات تخليقه الحيوي، ويكظم اللوسين تخليق الإنزيمات الثلاث الأولى المساهمة بتخليقه الحيوي. ويعود التخليق الحيوي للإنزيم من جديد عند نزع المادة المتوسطة المخلقة حيوياً من الوسط أو بعد استنزافها، وهذا ما يدعى إزالة الكظم (Derepression).

توضح الأمثلة السابقة الكظم الارتجاعي بالنواتج (Product feedback repression) المميز لسبل التخليق الحيوي في الجراثيم. وهناك ظاهرة مرتبطة بالظاهرة السابقة تدعى كظم المقيضة (Catabolite repression) وتعرف على أنها مقدرة مادة متوسطة في سلسلة من التفاعلات التقويضية المحفزة إنزيمياً على كظم تخليق الإنزيمات التقويضية. ولقد لوحظ هذا الأثر أول مرة في حالة الإشريكية القولونية النامية على مصدر كربوني (X) غير الجلوكوز، حيث تكظم إضافة الجلوكوز تخليق الإنزيمات المتعلقة بتقويض X؛ وقد سميت هذه الظاهرة في البداية باسم «أثر الجلوكوز»، ونظراً لأن مغذيات أخرى قابلة للأكسدة تنتج آثاراً مشابهة فقد تم اختيار مصطلح «كظم المقيضة». ويتواسط الأمب الحلقي (cAMP) هذه الظاهرة. وستناقش الآليات الجزيئية للتحريض والكظم وإزالة الكظم في (الفصل 14).

يحصل تقلب البروتين في كل أشكال الحياة:

يكون اتحاد عمليات تخليق الإنزيم وتدركه تقلب الإنزيم (Enzyme turnover)، الذي عرف كصفة مميزة لكل خلايا الثدييات قبل وقت طويل من معرفتنا أنه يحصل أيضاً في الجراثيم.

لقد استدل على وجود تقلب البروتين في الإنسان من تجارب النظام الغذائي منذ أكثر من قرن، ثم أثبتته بشكل جازم أعمال شونهايمر (Schoenheimer) الكلاسيكية التي قام بها قبيل الحرب العالمية الثانية وفي أثنائها. لقد قام هذا العالم بقياس

معدلات إقحام الأحماض الأمينية الموسومة بالنّظير ^{15}N في البروتين وفقد ^{15}N من البروتين، واستنتج أن بروتينات الجسم هي في حالة «توازن ديناميكي» وهو مفهوم اتسع لاحقاً ليشمل مكونات الجسم الأخرى بما فيها الشحميات والأحماض النووية. وفي حين يركز هذا الفصل بشكل أساسي على دراسة تنظيم نشاط الإنزيمات وكميتها، إلا أنه يجب أن تتذكر أن كل البروتينات تخضع لتقلب مستمر؛ ويؤمن هذا آلية لتجديد البروتينات الخلوية التي يملك جميعها عمراً وظيفياً محدوداً لأنها عرضة لهجوم كيميائي ثابت. وتشمل المصادر الشائعة لتأذي البروتين أكسدة ثمالات الهيستيدين والسستيين بالأكسجين الجزيئي ونزع أمين الأسباراجين والجلوتامين بالحلمهة بالماء.

ينظم معدل تدرك الإنزيمات النوعية:

سنناقش تدرك بروتينات الثدييات بالسبل المعتمدة على الأتب (ATP) واليوبيكيتين (Ubiquitin) والسبل المستقلة عن الأتب (ATP) في (الفصل 31). ويعتمد استعداد الإنزيم للتدرك بالتحلل البروتيني على هيئته (Conformation) التي يمكن أن تتبدل بوجود الركائز وتمائم الإنزيمات والأيونت الفلزية أو غيابها. وبذلك يمكن لتراكيز الركائز وتمائم الإنزيمات، وربما الأيونات، في الخلايا أن تؤثر في معدل تدرك الإنزيمات النوعية. ويوضح إنزيما الأرجيناز وأكسيجيناز (بيرولاز) التريبتوفان هذه المفاهيم حيث يتضمن تنظيم مستويات أرجيناز الكبد تغيراً في K_s أو في K_{deg}؛ فبعد تناول غذاء غني بالبروتين ترتفع مستويات أرجيناز الكبد ويعود ذلك لزيادة سرعة تخليق الأرجيناز؛ كما ترتفع مستويات أرجيناز الكبد أيضاً في الحيوانات الجائعة (نقص تدرك الأرجيناز في حين تبقى K_s غير متبدلة).

المثال الثاني هو زيادة حقن القشرانيات السكرية وتناول التريبتوفان لمستويات أكسيجيناز التريبتوفان في الثدييات؛ فالهرمون القشراني السكري يزيد سرعة تخليق الأكسيجيناز (يرفع K_s)، أما التريبتوفان فلا يؤثر في K_s بل يخفض K_{deg} بزيادة استقرار الأكسيجيناز ومقاومتها للهضم بالتحلل البروتيني. وبمقارنة هذين المثالين مع تحريض الإنزيم في البكتريا نجد أولاً أنه، بالنسبة للأرجيناز، يمكن أن

ترتفع مستويات أرجيناز الكبد (الفصل 31) عند زيادة الوارد من النتروجين (غذاء غني بالبروتين). وبذلك، فإن زيادة سرعة تخلق الأرجيناز تشابه بشكل سطحي التحريض بالركيزة في البكتريا. وثانياً، وبالنسبة لبيرولاز التريبتوفان، حتى ولو أن التريبتوفان يمكن أن يؤثر كمحرض في البكتريا (يؤثر في K_s) ينحصر أثره في الثدييات في عملية تدرك الإنزيم فقط (يخفض K_{deg}).

يمكن أن تتبدل مستويات الإنزيمات في أنسجة الثدييات بالكثير من العوامل الفيزيولوجية أو الهرمونية أو الغذائية؛ وهناك أمثلة معروفة لكثير من الأنسجة والسبل الأيضية، ولكن معرفة التفاصيل الجزيئية التي تعلل هذه التغيرات ما زالت جزئية.

ترفع القشرانيات السكرية تركيز ناقلة أمين التريبتوفان بتنبيه معدل التخليق (K_s)، وقد كان هذا هو المثال الأول الواضح لتنظيم تخليق إنزيم بالهرمونات في الثدييات. ويسبب كل من الإنسولين والجلوكاجون ـ رغم آثارهما الفيزيولوجية المتضادة ـ زيادة في (K_s) أربعة إلى خمسة أضعاف بشكل مستقل، ويتواسط الأمب الحلقي (cAMP) أثر الجلوكاجون.

تتوفر عدة خيارات لتنظيم النشاط التحفيزي:

يؤمن تبدل الكفاءة التحفيزية الذاتية للإنزيمات وسيلة سريعة لتنظيم نشاطها. ويعد تحريض تخليق البروتين عملية معقدة متعددة الخطوات تتطلب في الإنسان عدة ساعات لإحداث تغيرات كبيرة في مستوى الإنزيم الإجمالي. أما تغيير بنية الإنزيمات ووظيفتها المحرض بربط لجائن قابلة للتفارق (Dissociable ligands) (التنظيم التفارغي Allosteric regulation) أو بتشكيل أو حلمهة الروابط الكيميائية (التعديل التساهمي (Covalent modification))، فيمكن أن يجري خلال عدة ثوان أو أجزاء من الثانية.

وبشكل عام، فإن تغيير مستوى البروتين هي آلية مميزة للتغيرات التكيفية طويلة الأمد، في حين أن تغيير الكفاءة التحفيزية الذاتية لمجموع جزيئات الإنزيم الموجودة

تحدث تغيرات سريعة وعابرة.

يتم تنظيم بعض الإنزيمات بمستفعلات تفارغية:

يعدل النشاط التحفيزي لبعض الإنزيمات التنظيمية بمستفعلات تفارغية (Allosteric effectors) منخفضة الوزن الجزيئي لا تتشابه مطلقاً، من حيث البنية، مع أي من الركائز أو التمائم الإنزيمية للإنزيم المنظم أو أن الشبه قليل. ويطلق اسم التثبيط الارتجاعي (Feedback inhibition) على تثبيط نشاط إنزيم في سبيل للتخليق الحيوي بواسطة ناتج نهائي لذلك السبيل؛ فمثلاً بالنسبة للتخليق الحيوي لمركّب D ابتداء من A والمحفز بالإنزيمات Enz_1 حتى Enz_3،

$$A \xrightarrow{Enz_1} B \xrightarrow{Enz_2} C \xrightarrow{Enz_3} D$$

يثبط التركيز المرتفع للمركب D بشكل نموذجي تحويل A إلى B، وهذا لا يتضمن «رجوعاً» بسيطاً للمتوسطات، بل يتضمن مقدرةَ D على الارتباط بالأنزيم Enz وتثبيطه؛ وبذلك تقوم D بعملها كمستفعلة تفارغية سلبية (Negative allosteric effector) أو مثبط ارتجاعي (Feedback inhibitor) للإنزيم Enz_1. هذا يعني أن التثبيط الارتجاعي للإنزيم Enz_1 بواسطة D ينظم تخليق D. وفي الشكل النموذجي لهذا التثبيط، يرتبط D بالإنزيم الحساس في مقر متفارغ بعيد فراغياً عن المقر التحفيزي. يمكن أن تكون حرائك التثبيط الارتجاعي تنافسية أو غير تنافسية أو تنافسية جزيئاً أو غير مقترنة أو مختلطة. والتثبيط الارتجاعي هو الأكثر شيوعاً في سبل التخليق الحيوي. وكثيراً ما يكون المثبطُ الارتجاعي هو الجزيء الصغير الأخير قبل الوصول إلى الجزيء الكبروي (مثل الأحماض الأمينية قبل البروتينات والنوكليوتيدات قبل الأحماض النووية). ويحصل التنظيم الارتجاعي بشكل عام عند الخطوة المتحكمة الفريدة في سلسلة معينة للتخليق الحيوي؛ والمثال الأكثر دراسة هو تثبيط ناقلة كربامويل الأسبارتات الجرثومية بالنوكليوتيد CTP (انظر لاحقاً، وانظر الفصل 36).

وكثيراً ما يكون سبيل التخليق الحيوي متفرعاً، وتكون وظيفة قسمه الابتدائي

تخليق اثنين أو أكثر من المستقلبات الأساسية. ويبدي (الشكل 11-5) المقرات المحتملة للتثبيط الارتجاعي البسيط في سبيل متفرع للتخليق الحيوي (مثلاً للأحماض الأمينية أو البروتينات أو البَيريميدينات). وتكون الركائز S_1 و S_2 و S_3 طلائع للنواتج النهائية الأربعة (A و B و C و D)، وتكون S4 طليعة لـ B و C، أما S_5 فهي طليعة D فقط؛ وهكذا تُكوِّن المتواليات:

$$S_3 \longrightarrow A$$

$$S_4 \longrightarrow B$$

$$S_4 \longrightarrow C$$

$$S_3 \longrightarrow S_5 \longrightarrow D$$

تسلسلات تفاعلية خطية يمكن أن تتعرض للتثبيط الارتجاعي بنواتجها النهائية. ومرة أخرى، يقدم التخليق الحيوي للنوكليوتيدات (الفصل 36) أمثلة نوعية.

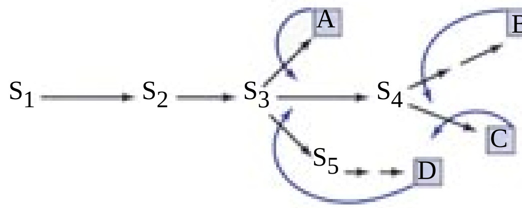
تنظم عرى ارتجاعية متعددة سبل التخليق الحيوي المتفرعة:

لدينا أيضاً سبيل تحكم إضافي دقيق يتم بواسطة عرى ارتجاعية متعددة (الشكل 11-6)؛ فمثلاً إذا كان B موجوداً بشكل مفرط، فإن الحاجة لـ S_2 تنقص، وبذلك يكون لمقدرة B على إنقاص إنتاج S_2 ميزة بيولوجية. ولكن على كل حال، إذا كان B المفرط لا يثبط فقط قسم السبيل الخاص بتخليقه وإنما يثبط أيضاً الأقسام المشتركة لسبل تخليق A أو C أو D، فإن B المفرط سيمنع تخليق كل النواتج النهائية الأربع؛ ومن الواضح أن هذا غير مرغوب فيه، ولذلك تطورت آلياتٌ للتغلب على هذه المشكلة.

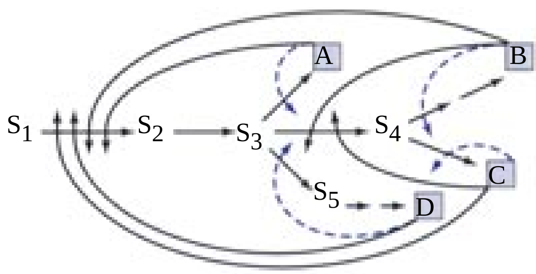
في التثبيط الارتجاعي التراكمي (Cumulative)، يكون الأثر التثبيطي لاثنين أو أكثر من النواتج النهائية على إنزيم تنظيمي واحد تجميعياً حصراً.

في التثبيط الارتجاعي الموزع (Concerted) أو متعدد الاتجاهات (Multivalent)، يحصل التثبيط الكامل فقط عند وجود اثنين أو أكثر من النواتج النهائية بشكل مفرط.

في التثبيط الارتجاعي التعاوني (Cooperative)، يثبط ناتج نهائي مفرد موجود بشكل مفرط الإنزيم التنظيمي، ولكن التثبيط عند وجود اثنين أو أكثر من النواتج النهائية يتجاوز كثيراً الآثار التجميعية للتثبيط الارتجاعي التراكمي.



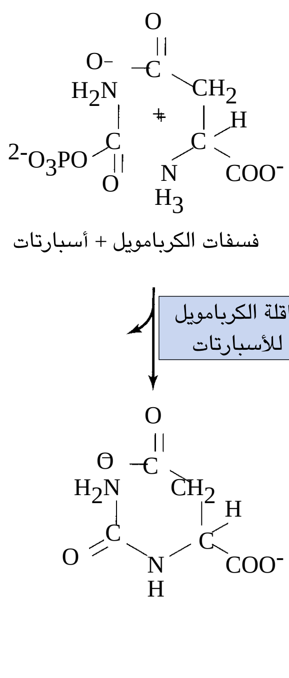
الشكل 11-5 : مقرات التثبيط الارتجاعي في سبيل متفرع للتخليق الحيوي. وتمثل الأحرف من S_1 إلى S_5 متوسطات في التخليق الحيوي للنواتج النهائية من A حتى D. وتمثل الأسهم المستقيمة الإنزيمات المحفزة للتحولات المشار إليها، أما الأسهم المنحنية فتمثل العرى الارتجاعية وتشير إلى المقرات المحتملة للتثبيط الارتجاعي بالنواتج النهائية.



الشكل 11-6 : التثبيط الارتجاعي المتعدد في سبيل متفرع للتخليق الحيوي. تطغى العرى الارتجاعية المتعددة (الأسهم المتواصلة المنحنية) على العرى الارتجاعية البسيطة (الأسهم المتقطعة المنحنية) وتنظم الإنزيمات المشتركة في التخليق الحيوي لعدة نواتج نهائية. (S_1 إلى S_5: متوسطات استقلابية؛ A إلى D : نواتج نهائية).

تمثل ناقلة كرباموويل الأسبارتات نموذجاً للإنزيم التفارغي:

تحفز ناقلة كرباموويل الأسبارتات (ATCase) التفاعل الأول الخاص بالتخليق الحيوي للبيريميدين (الشكل 11-7). ويتثبط هذا الإنزيم ارتجاعياً بثلاثي فسفات السيتيدين (CTP) ويفقد بعد المعالجة بالزئبقيات حساسيته لهذا التثبيط، ولكنه يحتفظ بكامل نشاطه لتخليق كرباموويل الأسبارتات. هذا يوحي بأن (CTP) مرتبط بمقر مختلف (تفارغي) عن مقر ارتباط أية ركيزة. ويتضمن هذا الإنزيم عدة قسيمات أو مواحيد (Protomers) تَحفيزية وتنظيمية، ويحوي كل قسيم تحفيزي أربع مقرات لربط الأسبارتات (الركيزة)، كما يحوي كل قسيم تنظيمي على مقرين على الأقل لربط النوكليوتيد CTP (تنظيميين).



الشكل 11-7 : تفاعل ناقلة كرباموويل الأسبارتات (ATCase).

تكون المقرات التفارغية والتحفيزية متمايزة فراغيا:

لاحظ مونود (Monod) عدم وجود تشابه بنيوي بين المثبط الارتجاعي وركيزة الإنزيم الخاضع للتنظيم. ولأن المستفعلات ليست متماثلة تجسيمياً (Isosteric) مع الركيزة بل تفارغية (Allosteric) (تشغل حيزاً آخر)، فقد اقترح أن الإنزيمات التي يجري تنظيم نشاطها بمستفعلات تفارغية (مثل المثبطات الارتجاعية) ترتبط معها المستفعلة في مقر متفارغ متمايز فيزيائياً عن المقر التحفيزي. وبذلك فإن الإنزيمات التفارغية هي إنزيمات يتغير نشاط مقرها التحفيزي بوجود مستفعلات تفارغية في مقر متفارغ. وتتضمن مجموعةُ البينات التي تدعم وجود مقرات متفارغة متميزة فيزيائياً في الإنزيمات المنظمة ما يلي:

1 – كثيراً ما تصبح الإنزيمات المنظمة المعدلة بطرق كيميائية أو فيزيائية غير حساسة لمستفعلاتها التفارغية دون تبديل نشاطها التحفيزي. ويمكن تحقيق تمسيخ انتقائي (Denaturation) للمقرات المتفارغة بمعالجتها بالزئبقيات أو اليوريا أو الأشعة X أو الإنزيمات الحالة للبروتين أو القيم المفرطة لتركيز الأيونات أو للباهاء (pH) أو بالتشيخ بدرجة 0-5 مئوية أو بالتجميد أو بالتسخين.

2 – كثيراً ما تحمي المستفعلات التفارغية المقر التحفيزي من التمسخ في ظروف لا تستطيع فيها الركائز ذاتها أن تقوم بذلك. وبما أنه من المستبعد أن مستفعلة مرتبطة بالمقر التحفيزي يمكنها حماية هذا المقر في حين لا تستطيع الركيزة القيام بذلك، فهذا يوحي بوجود مقر مختلف آخر في مكان آخر على جزيء الإنزيم.

3 – في بعض طافرات (Mutants) الخلايا الجرثومية وخلايا الثدييات، تتغير الخصائص التنظيمية للإنزيمات المنظمة وتبقى الخصائص التحفيزية كما هي في النمط البري (Wild-type) (أي لا تتبدل). هذا يعني حكماً أن بنية المقرات المتفارغة والتحفيزية منفصلة وراثياً.

4 – أظهرت دراسات ارتباط الركائز والمستفعلات التفارغية بالإنزيمات المنظمة أنه يمكن لكل منها أن يرتبط بشكل مستقل عن الآخر.

5 – في بعض الحالات (مثل ATCase)، يوجد المقر المتفارغ على قسيم مختلف عن القسيم الذي يوجد عليه المقرُّ التّحفيزي.

تؤثر الآلية التفارغية على K_m أو V_{max}:

إن إرجاع حرائك التثبيط التفارغي إلى كونها «تنافسية» أو «غير تنافسية» مع الركيزة، يتضمن معلومات مضللة عن الآليات؛ ويفضل بدلاً من ذلك اعتماد صنفين للإنزيمات المنظمة: إنزيمات السلسلة K وإنزيمات السلسلة V. وبالنسبة للإنزيمات التفارغية للسلسلة K، تكون حرائك التشبع بالركيزة تنافسية، بمعنى أن K_m تكون مرتفعة دون تأثير في V_{max}. وبالنسبة للإنزيمات التفارغية للسلسلة V، فإن المثبط التفارغي يخفض V_{max} دون التأثير في K_m الظاهرية. ومن المحتمل أن تنتج تغيرات K_m أو V_{max} من تغيرات التهايؤ في المقر التحفيزي والمحرضة بارتباط المستفعلة التفارغية بالمقر المتفارغ. وبالنسبة للإنزيم التفارغي من السلسلة K، يمكن لهذا التغير في الهيئة أن يضعف الروابط بين الركيزة والثمالات الرابطة للركيزة؛ وأما بالنسبة للإنزيم التفارغي للسلسلة V، فيمكن أن يكون الأثرُ الرئيسي تبديل توجه الثمالات التحفيزية أو شحنتها بحيث يخفض V_{max}. ولكن يمكن ملاحظة آثار متوسطة على K_m و V_{max} معاً ناتجة عن هذه التغيرات في الهيئة.

التنظيم الارتجاعي ليس مرادفاً للتثبيط الارتجاعي:

يقوم الناتج النهائي في خلايا كل من الثدييات والبكتريا «بالارتجاع» (Feedback) والتحكم بتخليقه. ويتضمن هذا في كثير من الحالات التثبيطَ الارتجاعي لإنزيم يقع في أوائل سبيل التخليق الحيوي. ولكن يجب أن نميز بين التنظيم الارتجاعي (Feedback regulation) (وهو مصطلح ظواهري دون أي مضامين آلية (أو ميكانيكية)) وبين التثبيط الارتجاعي (Feedback inhibition) (وهو آلية لتنظيم الكثير من إنزيمات البكتريا والثدييات). فمثلاً، يقيد الكوليسترول القوتي تخليق الكوليسترول من الأسيتات في أنسجة الثدييات؛ ولا يبدو أن هذا التنظيم

الارتجاعي يتضمن التثبيط الارتجاعي لإنزيم مبكر للتخليق الحيوي للكوليسترول. ويتأثر الإنزيم المبكر (مختزلة HMG-CoA) ولكن الآلية هي منع الكوليسترول (أو أحد مستقلباته) للتعبير عن الجين الذي يرمز هذا الإنزيم. ولا يؤثر الكوليسترول المضاف مباشرة إلى مختزلة HMG-CoA في نشاطها التحفيزي.

يؤثر العديد من الهرمونات عبر مراسيل تفارغية ثانية:

يحدث كل من ارتباط العديد من الهرمونات بمستقبلاتها على سطح الخلية والعديد من الدفعات العصبية (Nerve impulses) تغيرات في سرعة التفاعلات المحفزة بالإنزيمات داخل الخلايا المستهدفة عن طريق تحريض إطلاق أو تخليق مستفعلات تفارغية خاصة تدعى المراسيل الثانية[1] (Second messengers) (الفصل 44). وأحد هذه المراسيل المعروفة جيداً هو الأمب الحلقي (3/ , 5/ -cAMP), الذي يتخلق من الأتب (ATP) بواسطة إنزيم محلقة الأدينيليل كاستجابة لهرمون الإبينيفرين. وهناك مرسال آخر هو Ca^{2+} الذي يخزن ضمن الشبكة الهيولية العضلية للخلايا العضلية. وتفتح إزالة استقطاب الغشاء الناجمة عن تدفع عصبي قناة غشائية تدخل أيونات الكالسيوم في الهيولى؛ ويرتبط Ca^{2+} بالإنزيمات المساهمة في تنظيم التقلص وتحريك الجلوكوز المخزن وتحريكه من الجليكوجين وينشطها، ثم يؤمن الجلوكوز مطلوبية (Demand) الطاقة المزدادة للتقلص العضلي. ومن المراسيل الثانوية الأخرى أحادى فسفات الجوانوزين الحلقي (cGMP)َ -3,5 وعديد فسفات الإينوزيتول الذي ينجم عن حلمهة الشحميات الفسفورية بالفسفوليبازات المنظمة بالهرمونات.

يمكن أن تكون التعديلات التساهمية عكسية أو نهائية:

إن شكلي التعديل التساهمي الأكثر استخداماً في خلايا الثدييات هما الحل

[1] – *المرسال البدئي أو «الأول» هو جزيء الهرمون أو الدفعة العصبية (النبضة العصبية).*

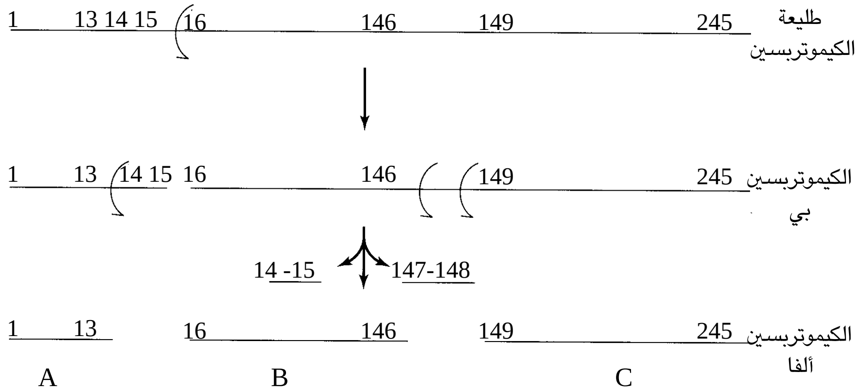
البروتيني الجزئي (Partial proteolysis) والفسفتة (Phosphorylation) ونظراً لأن الخلايا ليست قادرة على إعادة جمع قسمي البروتين الناتجين من حلمهة الرابطة الببتيدية، فإن هذه الأخيرة تعد تعديلاً غير عكسي. أما حلمهة الإسترات الفسفورية المتشكلة عند فسفتة البروتين تساهمياً على السلسلة الجانبية لثمالة سيرين أو ثريونين فهي عفوية من وجهة النظر الثرموديناميكية وهي أيضاً تحفز بالإنزيمات المسماة إنزيمات فسفاتاز البروتين. وهكذا، تمثل الفسفتة عملية تعديل عكسي.

يفرز العديد من إنزيمات البروتياز بشكل طلائع إنزيمية عاطلة تحفيزياً:

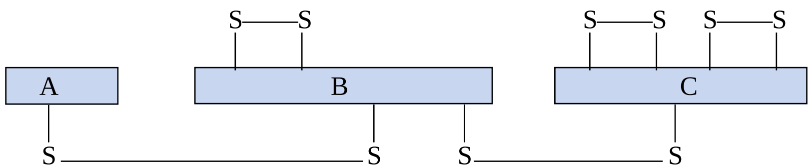
تخلق بعض البروتينات وتفرز على شكل بروتينات طليعية عاطلة تعرف باسم طلائع البروتينات (Proproteins). وعندما تكون إنزيمات، تسمى طلائع البروتينات هذه باسم طلائع الإنزيمات (Proenzymes) أو مولدات الإنزيمات (Zymogens). ويتضمن تحويل طليعة البروتين إلى البروتين الناضج عملية الحل البروتيني الانتقائي التي تحول طليعة البروتين بواحدة أو أكثر من «عمليات القص» المتتابعة الحالة للبروتين إلى شكل يملك النشاط المميز للبروتين الناضج (نشاطه الإنزيمي). ومن الأمثلة على البروتينات المصنعة كطلائع بروتينات نذكر كلاً من هرمون الإنسولين (طليعة البروتين = طليعة الإنسولين) والإنزيمات الهاضمة: الببسين والتربسين والكيموتربسين (طلائع البروتينات = مولد الببسين ومولد التربسين ومولد الكيموتربسين على التوالي) وعوامل مختلفة مشاركة في شلال تجلط الدم وذوبان جلطة الدم (انظر الفصل 59) وبروتين النسيج الضام: الكولاجين (طليعة البروتين = مولد الكولاجين).

إن تحويل طليعة الكيموتربسين (pro-CT) (متعدد ببتيد مكون من 245 ثمالة أمينو أسيل) إلى الإنزيم الفعال ألفا ـ كيموتربسين يتضمن ثلاث عمليات قص حال للبروتين وتشكيل متوسط نشيط معروف باسم الكيموتربسين π – (π-CT) (الشكل 8-11).

تبقى السلاسل A و B و C في الكيموتربسين ـ ألفا مرتبطة لأن هناك اثنتين من الروابط ثنائية السلفيد بين السلاسل في هذا الإنزيم (الشكل 11-9).



الشكل 11-8 : تحويل طليعة الكيموتربسين (pro-CT) إلى الكيموتربسين ـ بي (π-CT) ثم إلى الإنزيم الناضج الفعال تحفيزياً: الكيموتربسين ـ ألفا (α- CT)



الشكل 11-9 : الروابط ثنائية السلفيد (S-S) داخل سلاسل الكيموتربسين ـ ألفا وفيما بينها.

تسهل طلائع الإنزيمات التحريكَ السريع للفعالية المرادة استجابة للمطلوبية (Demand) الفيزيولوجية:

لماذا تفرز بعض البروتينات بشكل عاطل؟ إن بعض البروتينات ضرورية في كل الأوقات بشكل أساسي وبعضها الآخر (كإنزيمات تشكل جلطة الدم وذوبانها) ضروري فقط بشكل متقطع. فضلاً عن ذلك فإن الحاجة للإنزيمات الأخيرة غالباً ما تكون فورية. وتكون بعض العمليات الفيزيولوجية كالهضم متقطعة، ولكنها منتظمة وقابلة للتكهن بها إلى حد ما (رغم أن ذلك قد لا يكون هو حالة الإنسان البدائي). وهناك عمليات أخرى، كتشكل جلطة الدم وذوبان الجلطة وترميم النسيج، من الضروري أن تصبح جاهزة في الحال استجابة للحاجة الفيزيولوجية أو الفيزيولوجية المرضية الملحة.

يمكن، ومن النظرة الأولى، إدراك أهمية الزمن في عمليات تشكل جلطة الدم وذوبانها لتحقيق الاستتباب؛ وكذلك فإن تخليق البروتيازات كبروتينات طليعية عاطلة تحفيزياً يفيد في حماية النسيج الذي نشأت منه (مثل البنكرياس) من الهضم الذاتي. ويمكن ألا يكون استحداث البروتينات (تخليقها من جديد) الضرورية سريعاً بشكل كاف للاستجابة للطلب الفيزيولوجي المرضي الملح كحالة النزف مثلاً. إضافة إلى ذلك، يجب توفر جميعة (Pool) كافية وكاملة من الأحماض الأمينية الطليعية. وكذلك يمكن أن تكون عملية الإفراز بطيئة نسبة إلى الحاجة الفيزيولوجية.

يتطلب تنشيط طليعة الكَيموتربسين حل البروتين الانتقائي:

يوضح مثال تحويل طليعة البروتين إلى شكله الناضج الفعال فيزيولوجياً المبادئ العامة التالية لعمليات تحويل طليعة البروتين إلى بروتين:

1 – تتضمن العملية حل البروتين الانتقائي الذي يتطلب في بعض الحالات عملية قص واحدة حالة للبروتين.

2 – يمكن أن تنفصل عديدات الببتيد الناتجة أو أن تبقى مرتبطة في البروتين الناضج.

3– يمكن أن تترافق العملية بتغير كبير في الوزن الجزيئي الذي قد لا يتغير أيضاً.

4 – تحقيق هيئة (Conformation) جديدة للبروتين هو من النتائج الرئيسة لحل البروتين الانتقائي.

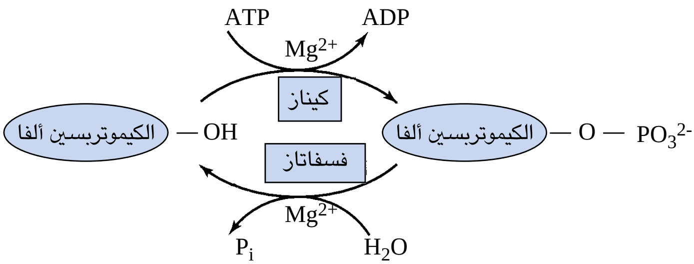
5 – وإذا كانت طليعة البروتين إنزيماً، فإن تغير الهيئة المذكور آنفاً يولد المقر التحفيزي. وفي الواقع، يمكن النظر إلى حل البروتين الانتقائي لطليعة إنزيم على أنها العملية التي تثير تغيرات أساسية في الهيئة تؤدي إلى «إحداث» المقر التّحفيزي.

لاحظ أنه بينما يكون الهيستيدين 57 والأسبارتات 102 على الببتيد B من الكيموتربسين ـ ألفا، فإن السيرين 195 يقبع في الببتيد C (الشكل 11-8). ويسهل حل البروتين الانتقائي لطليعة الكيموتربسين (مولد الكيموتربسين (Chymotrypsinogen)) تقريب الثمالات الثلاثة لشبكة ترحيل الشحنات مما يوضح كيف يؤدي حل البروتين الانتقائي إلى «إحداث» المقر التحفيزي. لاحظ كذلك أنه يمكن لثمالات التماس والتحفيز أن تتوضع على سلاسل ببتيدية مختلفة، ولكنها تبقى ضمن مسافة تشكيل الروابط للركيزة المرتبطة.

ينظم التّعديل التساهمي العكسي الإنزيمات المفتاحيّة للثدييات:

تستهدف العديد من عمليات التعديل التساهمي (Covalent modification) بروتينات خلايا الثدييات. وتؤدي بعض أشكال التعديل، كربط الجليكوزيل (Glycosylation) وربط الهيدروكسيل (الهدركسلة: Hydroxylation) والأسيلة (Acylation) بالحمض الدهني، إلى إدخال خصائص بنيوية جديدة إلى البروتينات المخلقة حديثاً؛ وتكون هذه التعديلات عادة دائمة وتستمر طوال حياة البروتين عموماً. ومن بين التعديلات التساهمية المستخدمة لتنظيم وظيفة البروتين كالمثيلة (Methylation) وربط الأدينيليل (Adenylylation)، والفسفتة (Phosphorylation) ونزع الفسفات (Dephosphorylation)، فإن الأخيرتين أكثرها استعمالاً على

الإطلاق. وتحفز فسفتة البروتينات بإنزيمات تدعى كينازات البروتين (Protein kinases) التي تحفز نقل مجموعة الجاما فسفوريل من الأتب (ATP) إلى مجموعات الهيدروكسيل للسلاسل الجانبية للسيريل أو الثريونيل أو التيروزيل لتشكيل ثمالات الأورثو ـ فسفوسيريل أو الأورثو ـ فسفوثريونيل أو الأورثو ـ فسفوتيروزيل على التوالي (الشكل 11-10). وتستهدف بعض كينازات البروتين السلاسل الجانبية لثمالات الهيستيديل والليزيل والأرجينيل والأسبارتيل. ويمكن إعادة توليد الشكل غير المعدل من البروتين بتفاعل ثان يحلمه مجموعة الفسفات ويحفز بإنزيمات فسفاتاز البروتين (Protein phosphatases).



الشكل 11-10 : التعديل التساهمي بآلية الفسفتة ـ نزع الفسفات. تضاف مجموعة الفسفات لثمالة السيرين في الإنزيم الخاضع للتنظيم.

تحوي الخلية النموذجية للثدييات أكثر من 5000 بروتين مفسفت وكذلك عدة مئات من كينازات البروتين وفسفاتازات البروتين المسؤولة عن التحويل البيني لها (Interconversion) (الجدول 11-1). ويكمن السبب الرئيس لشيوع استخدام الفسفتة ونزع الفسفات كآلية للتحكم بالنشاط الإنزيمي في سهولة التحويل البيني للإنزيمات بين أشكالها المفسفتة ومنزوعة الفسفات في الخلايا. ويسمح هذا بتغيير الخواص الوظيفية للإنزيم المتأثر خلال تأمينه لمتطلبات الكائن الحي فقط، وعندما تزول هذه الحاجة، يعاد تحويل الإنزيم إلى شكله الأصلي ويبقى جاهزاً للاستجابة

للتنبيه التالي. ويكمن السبب الثاني لاستخدام فسفتة البروتين ونزع فسفاته في الخواص الكيميائية لمجموعة الفسفوريل ذاتها. فأي تعديل للبنية الكيميائية لإنزيم ما بهدف تغيير خصائصه الوظيفية، يجب أن يؤثر في هيئته ثلاثية الأبعاد؛ ومن المعلوم أن الكثافة العالية لشحنة مجموعات الفسفوريل المرتبطة بالبروتين (قيمتها ـ 2 عادة في الباهاء (pH) الفيزيولوجية) وميلها لتشكيل جذور ملحية مع ثمالات الأرجينيل يجعلها قادرة على تعديل بنية البروتين ووظيفته.

وتستهدف الفسفتة عموماً الأحماض الأمينية البعيدة عن المقر التحفيزي ذاته معتمدة على التغيرات اللاحقة في هيئة الإنزيم للتأثير في كفاءته التحفيزية الذاتية أو في خصائصه الأخرى. وبهذا المعنى يمكن اعتبار مقرات الفسفتة ومقرات الأشكال الأخرى للتعديل التساهمي شكلاً آخر للمقر التفارغي مع فارق أن اللجين في هذه الحالة يرتبط بشكل تساهمي مع البروتين.

الإنزيم	حالة النشاط	
	منخفض	مرتفع
كربوكسيلاز أسيتيل التميم A	EP	E
سينثاز الجليكوجين	EP	E
نازعة هيدروجين البيروفات	EP	E
مختزلة HMG-CoA	EP	E
فسفوريلاز الجليكوجين	E	EP
ليَّاز السترات	E	EP
كيناز الفسفوريلاز b	E	EP
كيناز مختزلة HMG-CoA	E	EP

الجدول 11-1 : أمثلة لإنزيمات من الثدييات يتغير نشاطها التحفيزي بآلية الفسفتة ـ نزع الفسفات التساهمية.

E = الإنزيم منزوع الفسفات؛ EP = الإنزيم المفسفت. HMG-CoA= 3 – هيدروكسي –3– ميثيل جلوتاريل التميم A.

فسفتة البروتين عملية متعددة الجوانب ومتنوعة إلى حد بعيد:

إن فسفتة البروتين ونزع فسفاته عملية متعددة الجوانب وانتقائية. فليست كل البروتينات معرضة لهذا التعديل، ومن بين العديد من مجموعات الهيدروكسيل للسلاسل الجانبية المتوافرة على سطح بروتين ما، تستهدف ثمالة واحدة أو عدد صغير من الثمالات النوعية. وفي حين أن الوظيفة الإنزيمية الأكثر تأثراً هي الكفاءة التحفيزية للبروتين، يمكن للفَسفَتة أيضاً أن تغير الألفة للركائز أو التوضع ضمن الخلية أو الاستجابة للتنظيم باللجائن التفارغية. وتستطيع الفسفتة زيادة الكفاءة التحفيزية لإنزيم ما محولة إياه إلى شكله النشيط، في حين تحول فسفتة بروتين آخر إلى شكل ذي فعالية وظيفية صغيرة أو عاطل تماماً.

وتخضع العديد من البروتينات للفسفتة في مقرات متعددة، أو تكون عرضة للتنظيم بآليتي الفسفتة ـ نزع الفسفات والارتباط بلجائن تفارغية. كما يمكن تحفيز الفسفتة ـ نزع الفسفات عند أي مقر بالعديد من كينازات البروتين أو فسفاتازات البروتين؛ ويؤثر العديد من كينازات البروتين ومعظم فسفاتازات البروتين في أكثر من بروتين واحد، وهي ذاتها تخضع للتحويل البيني بين أشكالها النشيطة والعاطلة كاستجابة للارتباط بمراسيل ثانوية أو عن طريق التعديل التساهمي بالفسفتة ـ نزع الفسفات أيضاً.

ويؤدي تبادل التأثير بين كينازات البروتين وفسفاتازات البروتين أو بين النتائج الوظيفية للفسفتة في مقرات مختلفة أو بين مقرات الفسفتة والمقرات المتفارغة إلى تامين الأساس للشبكات التنظيمية التي تكامل الإشارات البيئية الواردة المتعددة لإثارة استجابة خلوية منسقة وملائمة.

تستجيب الإنزيمات في هذه الشبكات التنظيمية المعقدة للإشارات البيئية المختلفة؛ فمثلاً إذا كان من الممكن فسفتة إنزيم ما في مقر واحد بأكثر من كيناز، فإنه يمكن تحويله من الشكل الكفء تحفيزياً إلى آخر عاطل ـ والعكس بالعكس ـ استجابة لأي من الإشارات المختلفة. وإذا كان كيناز البروتين ينشط بالاستجابة لإشارة مختلفة عن تلك التي تنشط فسفاتاز البروتين، يصبح البروتين الفسفوري

مـركـز القـرار (التـحكم) (Decision Node). ويعكس النتـاج الوظيـفي ـ النشـاط التحفيزي عموماً ـ حالة الفسفتة التي تتحدد بالأنشطة النسبية لكيناز البروتين وفسفاتاز البروتين، وهذه الأنشطة هي انعكاس لوجود الإشارات البيئية التي تؤثر عبر كل منها ولقوتها النسبية.

وتؤمن مـقدرة العديد من كينازات البـروتينات وفسـفاتازات البـروتينات على استهداف أكثر من بروتين واحد وتؤمن وسائل تسمح لإشارة بيئية ما بتنظيم عدة عمليات أيضية بشكل متناسق؛ فعلى سبيل المثال، تتحكم مختزلة 3 – هيدروكسي – 3 – ميثيل جلوتاريل – التميم A وكربوكسيلاز أسيتيل – التميم A بمعدل التخليق الحيوي للكوليستيرول والأحماض الدهنية على الترتيب، ويُفَسْفَت هذان الإنزيمين ويعطلان بكيناز البـروتين المنشط بالأمب (AMP). وعند تنشـيط كـيناز البروتين هذه بالفسفتة بكيناز بروتيني آخر أو استجابة لارتباط منشطه التفارغي /5 -AMP، يثبط السبيلان الرئيسيان المسؤولان عن تخليق الشحميات من أسيتيل ـ التـميم A. ولا تقـوم الإنزيمات القـابلة للتـحويل البـيني والإنزيمات المسـؤولة عن تحويلها البيني بالعمل أو توقفه بشكل مستقل عن بعضها فحسب؛ بل تشكل لبنات البناء للحواسيب الحيوية الجزيئية الضرورية لحفظ الاستتباب في الخلايا بغية تحقيق نظام معقد من العمليات الأيضية التي يجب تنظيمُها استجابة لطيف واسع من العوامل البيئية.

ينظم التعديل التساهمي جريان المستقلبات:

هناك تشـابه بين تنظيم نشاط الإنزيم بآلية الفسفتـة ـ نزع الفسفات والتنظيم بالتثبيط الارتجاعي من عدة نواح؛ فكلاهما يؤمن تنظيماً سريعاً قصير الأمد وقابلاً للعكس لجريان المتأيضات استجابة لإشارات فيزيولوجية نوعية؛ وكلاهما يؤثر دون تغيير التعبير الجيني؛ وكلاهما أيضاً يؤثر في إنزيمات مبكرة لسبل أيضية (للتخليق الحيوي غالباً)؛ ويكون تأثيرهما عبر مقرات متفارغة، وليس في المقرات التحفيزية. لكن التثبيط الارتجاعي يتضمن بروتيناً واحداً ولا يتعرض لرقابة هرمونية أو عصبية؛ وعلى العكس من ذلك، يتضمن تنظيم إنزيمات الثدييات بآلية الفسفتة ـ

نزع الفسفات عدة بروتينات واستخدام الأتب (ATP) وهو خاضع للمراقبة العصبية والهرمونية المباشرة.

الخلاصة:

يساهم تنظيم النشاط الإنزيمي بشكل رئيسي في المحافظة على الاستتباب: أي المحافظة على بيئة ثابتة نسبياً داخل الخلايا وداخل الكائن الحي في مواجهة التقلبات الواسعة في البيئة الخارجية (كتغيرات الحرارة، ووجود الماء وأطعمة معينة أو غيابها). وللوصول للاستتباب، يجب أن تستجيب سرعة التفاعلات الكيميائية الحيوية العديدة للحاجة الفيزيولوجية، فكيف يجري ذلك ؟

إن قيم K_m لمعظم الإنزيمات ـ أي تركيز الركيزة الذي تستعمل عنده نصف كفاءتها التحفيزية الذاتية القصوى ـ بشكل عام مساوية للتراكيز الفيزيولوجية الوسطية لجزيئات ركائزها أو قريبة منها؛ وهذا ما يسمح لسرعة تحويل الركائز إلى نواتج بالتحفيز بأن تزداد أو تنقص مع تغيرات مستويات كل من المتوسطات الأيضية. ويتمم هذه الآلية المنفعلة للحفاظ على النشاط الأيضي المتوازن آليات فاعلة تستجيب للعوامل الخارجية كالهرمونات والنشاط العصبي. ولكي يكون التنظيم الفعال عملياً واقتصادياً يجري التحكم بجريان المتأيضات عبر معظم السبل الأيضية بواسطة إنزيم يحفز خطوة متحكمة في السبيل الأيضي ومحددة لمعدله. وتكون السعة التحفيزية لهذه الخطوة هي ناتج جداء كمية الإنزيم الموجود في كفاءته التحفيزية الذاتية، وتوجد آليات تغير السعة التحفيزية للتفاعلات الرئيسية المحفزة بالإنزيمات بتغيير أي من العاملين.

تتحدد كمية الإنزيم من خلال التوازن بين سرعة تخليق الإنزيم وسرعة تدركه. ويفرز العديد من البروتيازات والبروتينات المصدرة الأخرى بشكل طلائع بروتينات خاملة بيولوجياً بحيث يجب أن تخضع لشطر انتقائي حال للبروتين لتشكيل إنزيم أو هرمون نشيط بيولوجياً. ومن الأمثلة على ذلك الكيموتربسين والإنسولين وبروتيازات شلال تجلط الدم وذوبان جلطة الدم. ويؤمن إفراز هذه البروتينات بشكل طلائع عاطلة الحماية من تأثيرها إلى أن تنشأ الحاجة لها، ويسهل التحريك السريع

لنشاطها دون الحاجة لتخليق بروتيني جديد. ويثير واحد أو أكثر من الأحداث الانتقائية الحالة للبروتين تغيرات في الهيئة تقرب وترصف الثمالات البعيدة عن بعضها في البنية الأولية، مما يشكل المقر التحفيزي. وقد تستبعد الببتيدات المشكلة بالحل البروتيني الانتقائي (مثل سلسلتين ببتيديتين من الكيموتربسين، انظر الشكل 11-8)، وقد تبقى مرتبطة بروابط ثنائية السلفيد (الببتيدات A وB وC للكيموتربسين، والسلسلتان A وB للإنسولين).

يمكن تعديل الكفاءة التحفيزية الذاتية للإنزيمات بالتنظيم التفارغي أو التعديل التساهمي؛ ففي الأول يثير ارتباط المستقبلات والمراسيل الثانوية بمقرات خاصة، غالباً ما تكون بعيدة عن المقر التّحفيزي، تغيرات في هيئة الإنزيم تبدل السرعة V_{max} أو الثابتة K_m. وفي عمليات التخليق الحيوي، يتضمن التثبيط الارتجاعي متأيضة تنظيمية «تعمل ضد اتجاه تيار التخليق الحيوي» للإنزيم الذي بصدده (مثل تثبيط ناقلة كربامويل الأسبارتات بالـCTP) وبالنسبة لسبل التقويض، فإن متأيضات «تعمل في اتجاه تفاعلات التدرك الحيوي» للإنزيم المنظم تؤثر كمنظمات (مثل تثبيط الفسفوفركتوكيناز بالأتب (ATP) أو السترات). وعندما يستطيع أكثر من متأيض واحد القيام بالتنظيم الارتجاعي لإنزيم ما، يمكن أن يكون فعلها تراكمياً أو تعاونياً أو متعدد الاتجاهات. إضافة لذلك، يمكن لمتأيض ما أن ينظم نشاط عدة إنزيمات كل منها خاص بتسلسل معين من التفاعلات الأيضية (عرى ارتجاعية متعددة).

ينظم نشاط العديد من الإنزيمات لدى الإنسان وحقيقيات النوى الأخرى بالتعديل التساهمي؛ وأكثر أنماطه شيوعاً الفسفتة المعتمدة على الأتب (ATP) مع ما يتبعها من نزع حلمهي للفسفات على شكل الأورثو فسفات اللاعضوية. والفسفتة الانتقائية ـ غالباً لثمالات سيرين (Ser) أو تيروزين (Tyr) نوعية ـ ونزع الفسفات اللاحق يتحفزان بكينازات البروتينات وفسفاتازات البروتينات (إنزيمات محولة)؛ وتكون أنشطة هذه الإنزيمات المحولة خاضعة للتنظيم كذلك وبذلك يمكن للإنزيم المستهدف وإنزيماته المحولة أن تشكل قسماً من شلال تنظيمي يستجيب لإشارة تُثار بواسطة هرمون ما أو مرسال ثانوي كالأمب الحلقي(cAMP). وتشكل الإنزيمات المحولة وأهدافها شبكة تنظيمية متشابكة ـ حاسوب حيوي عضوي ـ يمكنها أن تعالج وتكامل معلومات بيئية معقدة لتحدث استجابة خلوية ملائمة وشاملة.

***References:**

Bray D: Protein molecules as computational elements in living cells. *Nature* 1995;376;307.

Crabtree B, Newsholme EA: A systematic approach to describing and analyzing metabolic control systems trends .*Biochem Sci* 1987;12;4

Falfvey E. schibler U: How are the regulators regulated? *Fed Am Soc Exp Biol J* 1990;5;309.

Graves DJ, Martin BL Wang JH: *Co- and Post-translational Modification of Proteins: Chemical Principles and Biological Effects.* Oxford Univ Press 1994.

Harris RA et al: Molecular cloning of the branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase kinase and the CoA-dependent methylmalonate semialdehyde dehydrogenase. *Adv Enzyme Regul* 1993;33;255

Johnson LN, Barford D: The effect of phosphorylation on the structure and function of proteins. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 1993;22;199.

Kacser H.Porteus JW; Control of motabolism; What have we to measure? *Trends Biochem Sci* 1987;12;5.

Kennelly PJ, Krebs EG: Cosensus sequences as substrein phosphatases.

J Biol Chem 1991;266;15555.

Pilkis SJ et al: 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-*bis*-phosphatase: A Metabolic signaling enzyme. *Annu Rev Biochem* 1995;64;799.

Roach PJ: Multisite and hierarchical protein phosphorylation. *J Biol Chem* 1991;266;14139.

Schlesinger MJ, Hershko A: *The Ubiquitin System.* Cold Spring Harbour Press, 1988.

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 7th ed. McGraw-Hill, 1995.

Soderling TR: Role of hormones and protein phosphorylation in metabolic regulation. *Fed Proc* 1982; 41; 2615.

Stadtman ER, Chock PB (editors): *Current Topics in cellular Regulation.* Academic.1969 to the present.

Weber G (editor): *Advances in Enzyme Regulation.* Pergamon Press, 1963-present.

الباب الثاني

الفصل الثاني عشر

الطاقيات البيولوجية وأيض السكريات والشحميات

الطاقيات البيولوجية: دور الأدينوزين أحادي الفسفات

Bioenergetics & the Metabolism of Carbohydrates & Lipids
Bioenergetics: The Role of ATP

مقدمة:

الطاقيات البيولوجية (Bioenergetics)، أو الثرموديناميكة (Thermodynamic) الكيميائية الحيوية، هي دراسة تغيرات الطاقة المصاحبة التفاعلات الكيميائية. وتوفر هذه الدراسة المبادئ الأساسية التي تفسر حدوث بعض التفاعلات في حين لا تحدث تفاعلات أخرى. قد تستخدم الجمل اللاحيوية الطاقة الحرارية لإنجاز العمل، أما الجمل الحيوية، التي هي بشكل أساسي متساوية الحرارة (Isothermic) فتستخدم الطاقة الكيميائية لتزويد العمليات الحياتية.

الأهمية الطبية البيولوجية:

لا بد من توافر وقود مناسب لتأمين الطاقة كي يستطيع الحيوان القيام بعملياته على أكمل وجه. إن كيفية حصول الكائن على هذه الطاقة من غذائه أمر أساسي لفهم أسس التغذية السوية والأيض. ويحدث الموت جوعاً عندما تستنفذ المدخرات الطاقية المتوافرة، وهناك بعض الأشكال من سوء التغذية (Malnutrition) تترافق مع لا توازن الطاقة (مثل السغل Marasmus).

تنظم سرعة تحرير الطاقة، المُقاسة من خلال سرعة الأيض، بوساطة هرمونات الغدة الدرقية، وبالتالي فإن سوء وظيفة الغدة الدرقية يتسبب بحدوث المرض. ويؤدي الاختزان الزائد للطاقة الفائضة إلى السمنة أو البدانة (Obesity)، وهي أحد الأمراض الأكثر شيوعاً في المجتمع الغربي.

الطاقة الحرة هي الطاقة المفيدة في الجملة

إن تبدل الطاقة الحرة (ΔG) هو ذلك الجزء من تبدل الطاقة الإجمالية في جملة ما، والذي يكون متاحاً لإنجاز العمل، أي أنه الطاقة المفيدة، وهو يعرف أيضاً في الجمل الكيميائية على أنه الكمون الكيميائي.

تخضع الجمل الحيوية لقوانين الثرموديناميكا العامة:

ينص القانون الأول من الثرموديناميكا على أن الطاقة الإجمالية لجملة ما بما في ذلك محيطها، تبقى ثابتة. وهو يعرف أيضاً بقانون الحفاظ على الطاقة، الذي يتضمن أنه لا يمكن للطاقة أن تضيع أو أن تزداد في أثناء حدوث أي تبدل ضمن الجملة الواحدة. لكن من الممكن انتقال الطاقة من جزء إلى آخر أو أن تتحول إلى شكل آخر من الطاقة ضمن هذه الجملة. فعلى سبيل المثال، قد تتحول الطاقة الكيميائية في الجمل الحيوية إلى حرارة أو إلى طاقة كهربائية أو إشعاعية أو حركية.

ينص القانون الثاني من الثرموديناميكا على أن الاعتلاج (Entropy) الإجمالي لجملة ما يجب أن يزداد في حال حدوث التفاعل أو الحدث بشكل تلقائي ويمثل الاعتلاج درجة الاضطراب أو العشوائية في الجملة، ويصبح أعظمياً عندما تقترب هذه الجملة من التوازن الحقيقي. ويعبر عن العلاقة بين تبدل الطاقة الحرة (ΔG) لجملة تفاعلية وتبدل الاعتلاج (ΔS) في شروط ثابتة من الحرارة والضغط بالمعادلة التالية، التي تجمع قانوني الثرموديناميكا:

$$\Delta G= \Delta H-T\Delta S$$

حيث يمثل ΔH تبدل السخانة (المحتوى الحراري Enthalpy) و T هي درجة الحرارة المطلقة.

وتحت شروط التفاعلات الكيميائية الحيوية، ولأن ΔH تكون مساوية تقريباً لـ ΔE، أي التبدل الإجمالي في الطاقة المحركة للتفاعل، فإنه يمكن التعبير عن المعادلة السابقة بالشكل التالي:

$$\Delta G = \Delta E-T \Delta S$$

إذا كانت ΔG سالبة الإشارة، فإن التفاعل سيسير تلقائياً مع حدوث خسارة بالطاقة الحرة، أي أن التفاعل مطلق للطاقة (Exergonic) إضافة لذلك إذا كانت قيمة ΔG كبيرة جداً، فإن التفاعل سيكون تاماً وبشكل أساسي غير عكسي. من جانب آخر إذا كانت إشارة ΔG إيجابية فإن التفاعل لا يحدث إلا عندما تزداد الطاقة الحرة أي عندما يتم صرف الطاقة فيكون عندها التفاعل ماصاً للطاقة (Endergonic). إضافة لذلك إذا كانت قيمة ΔG كبيرة هنا، فإن هذه الجملة تكون ثابتة مع ميل قليل أو معدوم لإجراء التفاعل، أما إذا كانت قيمة ΔG مساوية للصفر فإن الجملة تكون بحالة توازن ودون حدوث أي تبدل في الطاقة.

عندما توجد المواد المتفاعلة بتراكيز 1 جزئي/ ليتر، تكون ΔG° هي تبدل الطاقة الحرة المعيارية.وتتصف الحالة المعيارية في التفاعلات الكيميائية الحيوية بأنها ذات قيمة باهاء (pH) يساوي 7.0 ويشار إلى تبدل الطاقة الحرة المعيارية عند هذه الحالة المعيارية بالمصطلح ΔG°.

يمكن احتساب تبدل الطاقة الحرة المعيارية من ثابتة التوازن K_{eq} على الشكل التالي:

$$\Delta G = - 2.303RT \, L_{og} K_{eq}$$

حيث R هي ثابتة الغاز و T هي درجة الحرارة المطلقة (الفصل 9). ومن المهم ملاحظة أن قيمة ΔG الفعلية قد تكون أكبر أو أصغر من ΔG°، حيث يتعلق ذلك بتراكيز المتفاعلات (Reactants) المتعددة، بما فيها المذيب والأيونات المتنوعة والبروتينات. ومن الضروري أن ندرك، أنه في جملة التفاعل الكيميائي الحيوي، يقوم الإنزيم بتسريع الوصول لحالة التوازن فقط دون أن يغير التراكيز النهائية للمتفاعلات عند التوازن وبعد أن تنفصل عن الإنزيم.

تجري العمليات الماصّة للطاقة بالاقتران مع العمليات المطلقة للطاقة:

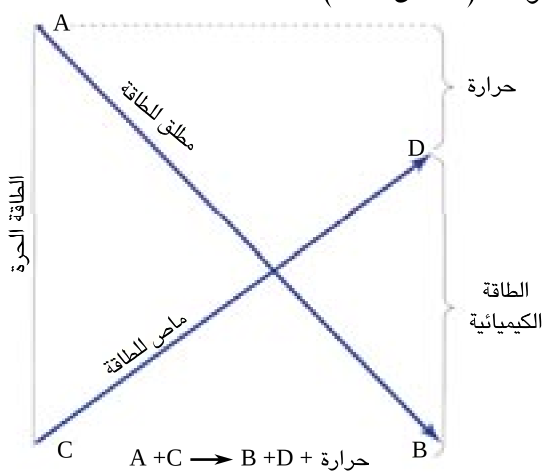
تحصل العمليات الحيوية مثل تفاعلات التخليق والتقلص العضلي وتوصيل الدفعات العصبية والنقل الفعال، على الطاقة عن طريق الارتباط الكيميائي أو التقارن (Coupling) مع التفاعلات التأكسدية. ويمكن تمثيل هذا النمط من التقارن بشكل مبسط كما في الشكل. حيث إن تحول المتأيض A إلى المتأيض B يترافق مع تحرير للطاقة الحرة. وهو يكون مقترناً بتفاعل آخر يحتاج للطاقة الحرة لتحويل المتأيض C إلى المتأيض D. وحيث أن بعض الطاقة المتحررة من تفاعل التدرك يتم نقلها إلى تفاعل تخليق بشكل غير حراري، فإنه لا يمكن هنا استعمال المصطلحات الكيميائية الطبيعية مطلق للحرارة (Exothermic) وماص للحرارة (Endothermic) للإشارة إلى هذه التفاعلات. وعلى الأصح، فإن مصطلحات مطلق للطاقة وماص للطاقة المستخدمة للإشارة إلى أن عملية ما تكون مترافقة مع ضياع أو كسب للطاقة الحرة على الترتيب دون الأخذ في الحسبان شكل الطاقة المساهمة في هذه العملية. ومن الناحية العملية، فإن التفاعل الماص للطاقة لا يمكن أن يتواجد بشكل مستقل، بل من الضروري أن يكون جزءاً من جملة مقترنة مطلقة وماصة للطاقة، بحيث يكون الحصيل الصافي للتبدل مطلقاً للطاقة. ويطلق تعبير التقويض (Catabolism)على

التفاعلات المطلقة للطاقة (ويعني ذلك عموماً تحطيم أو أكسدة جزئيات الوقود)، في حين يطلق تعبير الابتناء (Anabolism)على تفاعلات التخليق التي تقوم ببناء المواد. وإن مجموع عمليات التقويض والابتناء يسمى أيض (Metabolism).

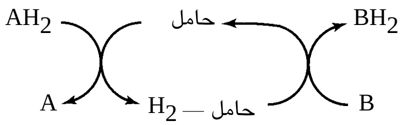
إذا سار التفاعل المبين (بالشكل 12-1) من اليسار إلى اليمين، فإن محصلة العملية تكون مترافقة مع خسارة بالطاقة الحرة على شكل حرارة. ويمكننا أن نتصور إحدى آليات الاقتران فيما لو وجد متوسط مشترك حتمي (I) يأخذ حيزاً في كلا التفاعلين، كما يلي:

$$A+C \longrightarrow I \longrightarrow B+D$$

تقترن بعض التفاعلات المطلقة للطاقة والماصة للطاقة في الجمل الحيوية بهذا الأسلوب. ومن الضروري أن ندرك هنا بأن هذا النمط من الجمل يمتلك آلية داخلية من أجل المراقبة الحيوية للمعدل الذي به يسمح بحدوث العمليات التأكسدية، لأن وجود متوسط مشترك حتمي يسمح لمعدل استخدام الناتج (D) من سبيل التخليق بأن يحدد، عن طريق قانون فعل الكتلة، معدل أكسدة المادة (A).وفي الواقع توفر هذه العلاقات الأساس لمفهوم تنظيم التنفس، وهي العملية التي تقي الكائن الحي من الاحتراق الذي يحدث عند غياب المراقبة والتنظيم ويتوضح مفهوم الاقتران بالنظر إلى تفاعلات نزع الهيدروجين التي تقترن مع تفاعلات الهدرجة (إضافة الهيدروجين) عن طريق ناقل متوسط (الشكل 12-2).



الشكل 12-1 : اقتران تفاعل مطلق مع آخر ماص للطاقة.



الشكل 12-2 : اقتران تفاعلات نزع وضم الهيدروجين بوساطة حامل متوسط.

توجد طريقة بديلة لاقتران العملية المطلقة للطاقة مع الماصة للطاقة وهي تتم بتخليق مركب بكمون عال من الطاقة في تفاعل مطلق للطاقة، ومن ثم دخول هذا المركب الجديد إلى تفاعل ماص للطاقة، وبذلك يتم انتقال الطاقة الحرة من السبيل المطلق للطاقة إلى الماص للطاقة. وفي (الشكل 12-3) يمثل (E) المركب ذي الكمون الطاقي المرتفع أما (E) فهو المركب الموافق ذو الكمون الطاقي المنخفض. إن الفائدة الحيوية من هذه الآلية هي أن (E) وخلافاً للمركب I في الجملة السابقة، لا يحتاج لأن يكون على علاقة بنيوية مع A أو B أو C أو D. وهذا يجيز للمركب (E) لأن يعمل كناقل للطاقة من عدد كبير من التفاعلات المطلقة للطاقة إلى عدد مواز من التفاعلات أو العمليات الماصة للطاقة كما هو مبين في (الشكل 12-4). وفي الخلية الحية، يعد ثلاثي فسفات الأدينوزين ATP (الذي يشار إليه بـ (E)~) الوسيط الأساسي أو المركب الناقل للطاقة عالية القيمة.

تلعب الفسفات عالية الطاقة دوراً مركزياً في التقاط الطاقة ونقلها:

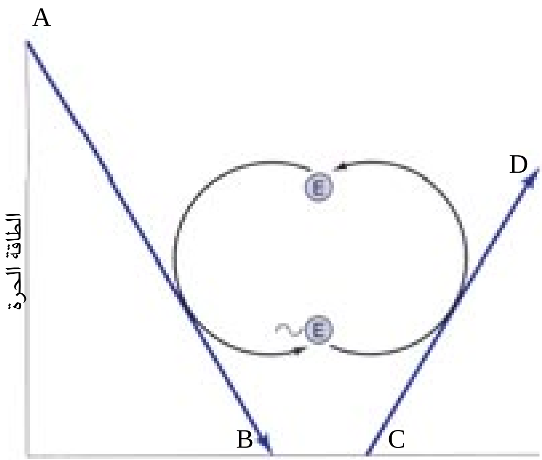
يجب أن تحصل كل الكائنات الحية على تزويد مستمر من الطاقة الحرة من البيئة المحيطة بها للمحافظة على عملياتها الحياتية. فالكائنات الحية ذاتية التغذية (Autotrophic) تقوم بذلك من خلال اقتران استقلابها مع بعض العمليات البسيطة المطلقة للطاقة في بيئتها المحيطة، مثل النباتات الخضراء التي تستعمل طاقة الأشعة

الشمسية، وبعض الجراثيم ذاتية التغذية المستفيدة من التفاعل $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$. وبالمقابل تحصل الكائنات الحية غيرية التغذي (Heterotrophic) على الطاقة الحرة من خلال اقتران استقلابها مع عملية تحطيم جزيئات عضوية معقدة موجودة في الوسط المحيط بها. وعند جميع هذه الكائنات الحية، يلعب ATP دوراً أساسياً في نقل الطاقة الحرة من العمليات المطلقة للطاقة إلى الماصة للطاقة (الشكلان 4-13و 4-12). والـ ATP عبارة عن نوكليوتيد ثلاثي فسفات يحوي أدينين وريبوز وثلاثة زمر فسفاتية. وهو في تفاعلاته بالخلية، يقوم بالوظائف على شكل مركب مع المغنيسيوم Mg^{2+} (الشكل 12-5).

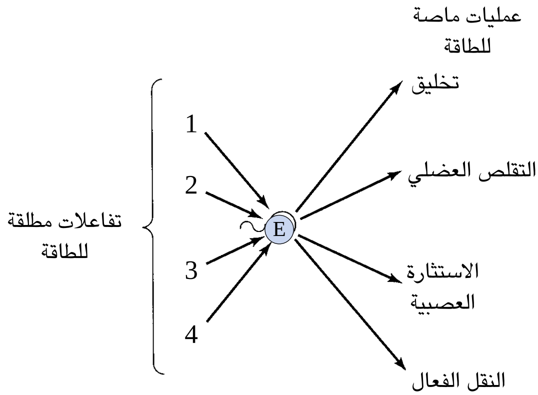
أصبحت أهمية الفسفات في الأيض المتوسط واضحة مع اكتشاف تفاصيل كيميائية عن تحلل السكر (Glycolysis) وعن دور الأتب ATP وثنائي فسفات الأدينوزين (ADP) والفسفات اللاعضوية (pi) في هذه العملية (الفصل 19). كان الأتب ATP يعد وسيطاً لنقل جذور الفسفات في عملية الفسفتة، وتَوَضح فيما يعد دور الأتب ATP في علم الطاقة الكيميائية الحيوية من خلال تجارب أُجريت في الأربعينات وأظهرت أن الأتب ATP والكرياتين فسفسات يتحطمان في أثناء التقلص العضلي وبأن إعادة تخليقهما معتمدة على توفير الطاقة من التفاعلات التأكسدية التي تجري في العضلة. ولم يكن دور هذه المركبات في علم الطاقة البيولوجية واضحاً تماماً حتى جاء العالم ليبمان (Lipman) وقدم مفهوم الفسفات عالية الطاقة والرابطة الفسفاتية عالية الطاقة.

إنّ للقيمة المتوسطة للطاقة الحرة الناجمة عن حلمهة الأتب ATP بالمقارنة مع تلك الناجمة عن مركبات فسفات عضوية أخرى دلالة هامة بالنسبة للطاقة الحيوية

يعرض (الجدول 12-1) قيمة الطاقة الحرة المعيارية الناجمة عن حلمهة عدد من المركبات الفسفاتية ذات الأهمية الكيميائية الحيوية. ومن الممكن تحديد الميل النسبي لكل زمرة فسفاتية للانتقال إلى متقبل مناسب من خلال قيمة ΔG° لتفاعل الحلمهة (المقاسة عند درجة حرارة 37°م).

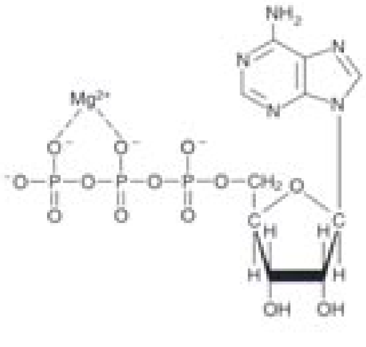


الشكل 12-3 : نقل الطاقة الحرة من تفاعل مطلق للطاقة إلى آخر ماص لها عن طريق مركب متوسط عالي الطاقة.



الشكل 12-4 : تنبيغ الطاقة من خلال مركب مشترك عالي الطاقة إلى عمليات بيولوجية تحتاج للطاقة (ماصة للطاقة).

ويمكن أن نلاحظ من الجدول أن قيمة حلمهة زمرة الفسفات الطرفية من الأتب ATP تقسم الجدول إلى مجموعتين. الأولى هي مركبات الفسفات منخفضة الطاقة المتمثلة بزمر استرالفسفات الموجودة في متوسطات سبيل تحلل السكر وهي ذات قيمة $\Delta G^{0'}$ أقل من التي للأتب ATP، في حين أن المجموعة الثانية هي مركبات الفسفات عالية الطاقة والتي قيمتها أعلى من التي للأتب ATP. وتضم المركبات في هذه المجموعة الأخيرة الأتب ATP، وهي عادة أنهيدريدية (بلا ماءات) (Anhydrides) (مثل 1– فسفات في 1،3– ثنائي فسفوجليسيرات)، وفسفات الإينول (مثل فسفوإينول بيروفات)، والفسفوجوانيدينات (مثل كرياتين فسفات وأرجنين فسفات). إن الموقع الأوسط الذي يتمتع به الأتب ATP يسمح له بأن يلعب دوراً مهماً في نقل الطاقة. ويعزى التدل الكبير بالطاقة الحرة الملاحظ عند حلمهة الأتب ATP إلى تنافر الشحنات السالبة المتجاورة التابعة لذرات الأكسجين وإلى ثبات نواتج التفاعل، بخاصة الفسفات التي تكون على شكل هجائن طنينية (Resonance hybrids). ومن المركبات الأخرى المهمة حيوياً والتي تصنف كمركبات عالية الطاقة نذكر استرات الثيول (الكبريت) ومنها تميم الإنزيم A مثل أسيتيل ـ (CoA)، والبروتين الحامل للأسيل، وأسترات الأحماض الأمينية التي تدخل في التخليق البروتيني، و S ـ أدينوزيل ميثيونين (الميثيونين الفعّال) و يوريدين ثنائي فسفات الجلوكوز "UDPGLc"، و 5–فسفوريبوزيل ـ 1 ـ بيروفسفات "PRPP".



الشكل 12-5 : ثلاثي فسفات الأدينوزين (ATP) موضح بشكل مركب مع المغنيزيوم. يشكل الأتب ADP مركباً مشابهاً مع Mg^{2+}.

المركب	$\Delta G^{\circ\prime}$	
	كيلو جول/ مول	كيلو كالوري/ مول
فسفو إينول بيروفات	61.9-	14.8-
كرباموبل فسفات	51.4-	12.3-
3،1 –ثنائي فسفوجليسرات (إلى 3–فسفوجليسرات)	49.3-	11.8-
كرياتين فسفات	43.1-	10.3-
Pi + ADP ← ATP	30.5-	7.3-
Pi + AMP ← ADP	27.6-	6.6-
البيروفسفات	27.6-	6.6-
جلوكوز –1– فسفات	20.9-	5.0
فركتوز –6– فسفات	15.9-	3.8-
AMP	14.2-	3.4-
جلوكوز–6– فسفات	13.8	3.3
جليسرول –3– فسفات	9.2	2.2

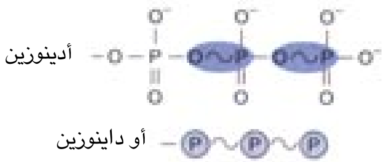
الجدول 12-1 : الطاقة الحرة المعيارية الناجمة عن حلمهة بعض مركبات الفسفات العضوية ذات الأهمية الكيميائية الحيوية [1، 2].

1– P i هي الفسفات السوية اللاعضوية.

2 – أخذت القيم من أجل ATP ومعظم المركبات الأخرى من كريبس وكورنبرج (1957) . وتختلف هذه القيم حسب المصدر ويتوقف ذلك على الشروط الدقيقة التي تمت عندها إجراء المقايسات.

يشار إلى الفسفات عالية الطاقة بالرمز (P)~:

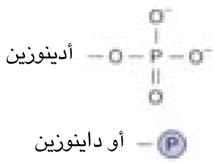
للدلالة على وجود زمرة فسفاتية عالية الطاقة، قدم ليبمان الرمز (P)~، الذي يشير إلى أنه لدى انتقال الزمرة المرتبطة بهذه الرابطة إلى متقبل (Acceptor) مناسب ينتج عن ذلك انتقال كمية كبيرة من الطاقة الحرة. لهذا السبب فإن بعضهم يفضل استعمال مصطلح كمون نقل الزمرة عوضاً عن الرابطة عالية الطاقة. وبذلك، يحتوي الأتب ATP زمرتين من الفسفات عالية الطاقة، والأتب ADP زمرة واحدة، في حين تكون زمرة الفسفات في الأمب AMP (أحادي فسفات الأدينوزين) من النمط منخفض الطاقة لأنها رابطة إسترية عادية (الشكل 12-6).



ثلاثي فسفات الأدينوزين (ATP).



ثنائي فسفات الأدينوزين (ADP).

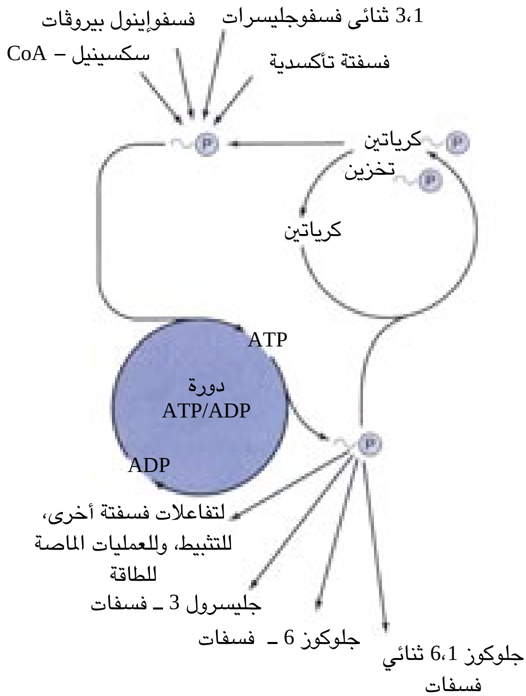


أحادي فسفات الأدينوزين (AMP).

الشكل 12-6 : بنية كل من الـ ATP و ADP و AMP والتي تظهر موضع الزمر الفسفاتية عالية الطاقة (P) ~ وعددها.

تعمل الفسفات عالية الطاقة كعملة طاقية متداولة في الخلية:

نظراً لأن الأتب ATP يأخذ موقعاً متوسطاً في قائمة قيم الطاقة الحرة المعيارية الناتجة عن تفاعل الحلمهة (الجدول 12-1) فإنه يكون قادراً على أن يعمل كعاطي للفسفات عالية الطاقة لتشكيل تلك المركبات الواقعة دونه في الجدول. وبالمقابل فإنه عند توافر الآلية الإنزيمية الضرورية، يمكن للـADP أن يتقبل الفسفات عالية الطاقة لتشكيل الأتب ATP اعتباراً من تلك المركبات الموجودة فوق الأتب ATP في هذا الجدول. وبالمحصلة، فإن دورة ADP/ ATP تربط العمليات التي تولد (P) مع تلك العمليات التي تستعمل (P) (الشكل 12-7). وبهذا الشكل يستهلك الأتب ATP ويعاد تشكيله بشكل متواصل، حيث يحدث ذلك بمعدل سريع جداً، لأن جميعه ADP ATP /(pool) الإجمالية قليلة جداً وتكفي للمحافظة على النسيج فعالاً لبضع ثوان فقط.



الشكل 12-7 : دور دورة ATP/ADP في نقل الفسفات عالية الطاقة. لاحظ أنه لا توجد زمرة (P)~ في حالة حرة يجري تناقلها في التفاعلات المعروضة.

توجد ثلاث مصادر رئيسية لـ (P)~ وهي تلعب دوراً في المحافظة على الطاقة أو التقاطها هي:

1- الفسفتة التأكسدية (Oxidative phosphorylation): وهي أكبر مصدر كمي لـ (P)~ في الكائنات الحيوائية (Aerobic) حيث تأتي الطاقة الحرة التي تسير هذه العملية من تفاعلات الأكسدة في السلسلة التنفسية باستخدام الأكسجين الجزيئي داخل المتقدرات (الفصل 13).

2 – تحلل السكر: يتشكل هنا إثنان من الـ (P)~ بشكل صاف وهما ينتجان عن تشكيل جزئية واحدة من اللاكتات اعتباراً من جزيء واحد من الجلوكوز في تفاعلين يُحفزهما كيناز الفسفوجليسيرات وكيناز البيروڤات على الترتيب (الشكل 19-2).

3 – دورة حمض السيتريك (الليمون): تتولد زمرة (P)~ واحدة مباشرة في الدورة عند التفاعل الذي يحفزه ثيوكيناز السكسينيل (الشكل 18-3).

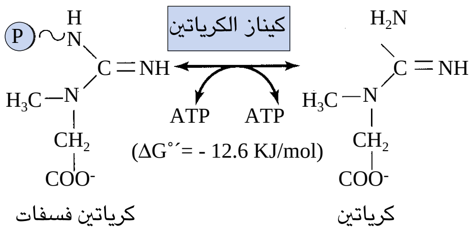
هناك مجموعة أخرى من المركبات تسمى الفسفوجينات (Phosphogens)، تعمل كأشكال ادخارية للفسفات عالية الطاقة، نذكر منها الكرياتين فسفات التي توجد في العضلات الهيكلية والقلب والنطاف والدماغ عند الفقاريات، وكذلك أرجينين فسفات الموجودة في عضلات اللافقاريات. وعند الشروط الفيزيولوجية، تتيح هذه الفسفاجينات لتراكيز الـ ATP لأن تظل مصانة في العضلة عندما يستهلك الأتب ATP بسرعة كمصدر لطاقة التقلص العضلي.

ومن جانب آخر، عندما يتوافر الأتب ATP كثيراً ويكون تناسب ADP/ ATP مرتفعاً، فإن تركيز الفسفوجينات يزداد لتعمل كمخزن للفسفات عالية الطاقة (الشكل 12-8). لقد وصف مكوك (Shuttle) الكرياتين فسفات في العضلة على أنه ينقل الفسفات عالية الطاقة من المتقدرات إلى غمد الليف العضلي وهو يعمل كدارئة للفسفات عالية الطاقة (الشكل 14-16).

كما أنه قد يكون لهذه الدارئة أهمية كبيرة في توفير حماية مباشرة من تأثيرات الاحتشاء في العضلة القلبية.

عندما يعمل الـ ATP كعاطي للفسفات لتشكيل تلك المركبات التي ينتج عن حلمهتها طاقة حرة أقل قيمة منه (الشكل 12-1)، فإن زمرة الفسفات تتحول بشكل ثابت إلى أخرى ذات طاقة منخفضة مثل:

(P)~(P)- أدينوزين +(P)- جليسرول $\xrightarrow{\text{كيناز جليسرول}}$ -(P)~(P)~(P)- أدينوزين + جليسرول



الشكل 12-8 : نقل الفسفات عالية الطاقة بين الأتب ATP والكرياتين.

يسمح الـATP باقتران تفاعلات غير مناسبة ثرموديناميكياً بأخرى مناسبة:

يوضح (الشكلان 12-1 و 12-3) طاقة التفاعلات المقترنة. وكمثال عليها نأخذ التفاعل الأول في سبيل تحلل السكر (الشكل 19-2) وهو فسفتة الجلوكوز إلى جلوكوز –6– فسفات، حيث هو تفاعل آخذ بشدة للطاقة ولا يمكن أن يجري لوحده إلا ضمن الشروط الفيزيولوجية.

$$\Delta G^{\circ} = + 13.8 \text{ كيلو جول/ جزئ}$$

$$(1)\ Pi + \text{جلوكوز} \rightarrow \text{جلوكوز –6– فسفات} + H_2O$$

ولكي يتحقق هذا التفاعل، يجب أن يقترن مع تفاعل آخر يطلق الطاقة أكثر من تفاعل فسفتة الجلوكوز الذي هو آخذ للطاقة. مثل هذا التفاعل هو حلمهة الفسفات الطرفية في الأتب ATP.

$$(2)\ ATP \longrightarrow ADP + Pi \quad (\Delta G^{\circ} = -30.5 \text{ كيلو جول/ جزئي})$$

وعندما يقترن التفاعلين (1) و (2) بتفاعل يحفزه هكسوكيناز، فإن فسفتة الجلوكوز تجري بسرعة بتفاعل مطلق كثيراً للطاقة والذي يكون عند الشروط الفيزيولوجية بعيداً عن التوازن وبالتالي فهو غير عكسي لغاية عملية:

$$\text{جلوكوز} + ATP \xrightarrow{\text{فسفات هكسوكيناز}} \text{جلوكوز –6–} + ADP$$

$$(\Delta G^{0'} = -16.7 \text{ كيلو جول/ مول})$$

علماً أن العديد من تفاعلات التنشيط تجري وفق هذا الأسلوب.

يتوسط كيناز الأدينيلات التحولات البينية لنوكليوتيدات الأدينين:

يوجد إنزيم كيناز الأدينيلات أو الأدينيليل (الكيناز العضلي Myokinase) في معظم الخلايا، وهو يحفز حدوث التحول البيّني للأتب ATP والأمب AMP من جهة ولـ ADP من جهة أخرى.

$$2ADP \xrightarrow{\text{كيناز الأدينيلات}} AMP + ATP$$

ولهذا التفاعل ثلاث وظائف:

1 – يسمح للفسفات عالية الطاقة في ADP بأن تستخدم لتخليق ATP.

2 – يسمح باستعادة الـ AMP الذي ينتج عن عدة تفاعلات تنشيط يساهم فيها الأتب ATP، عن طريق إعادة فسفتته إلى ADP.

3 – يسمح بزيادة تركيز AMP عندما يستنفذ ATP، وبأن يعمل كإشارة أيضية (تفارغية Allosteric) لزيادة معدل تفاعلات التقويض، التي تؤدي بدورها إلى توليد المزيد من ATP (الفصل 21).

تنتج زمرة البيروفسفات (PPi) عندما يتشكل الأمب AMP من الأتب ATP:

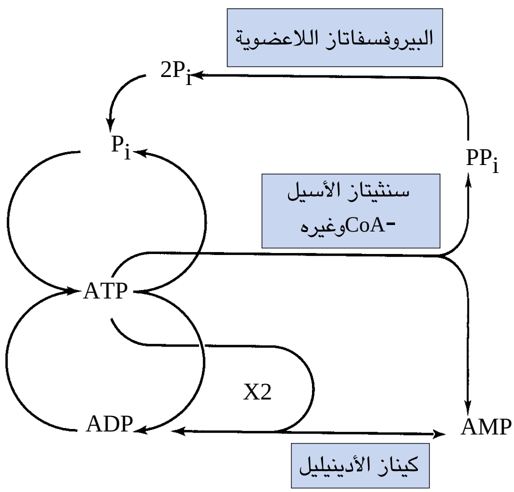
يحدث هذا، على سبيل المثال، عند تنشيط الأحماض الدهنية طويلة السلسلة:

$$ATP + CoA.SH + R.COOH \longrightarrow AMP + PP_i + R.CO - SCoA$$

حيث يترافق هذا التفاعل مع ضياع طاقة حرة على شكل حرارة وهذا يضمن جريان تفاعل التنشيط نحو اليمين، ويدعم هذا إضافياً عن طريق انشطار PPi بالحلمهة، وهو تفاعل يحفزه البيروفسفاتاز اللاعضوية وله قيمة ΔG° عالية تساوي – 27.6 كيلوجول/مول. ومن المهم ملاحظة أن تفاعلات التنشيط عبر سبيل البيروفسفات تؤدي إلى خسارة زمرتين (P)~ بدلاً من خسارة زمرة واحدة منها كما يحدث عندما يتشكل ADP و Pi.

$$PPi + H_2O \xleftarrow{\text{البروفسفاتاز اللاعضوية}} 2\ Pi$$

إن اتحاد التفاعلات الموضحة أعلاه يجعل من الممكن إعادة دورة الفسفات وبالتبادل البيني لنوكليوتيدات الأدينين (الشكل 12-9).



الشكل 12-9 : دورات الفسفات وتبادل نوكليوتيدات الأدينين.

تشارك النوكليوتيدات ثلاثية الفسفات الأخرى في نقل الفسفات عالية الطاقة:

يمكن تخليق نوكليوتيدات ثلاثية فسفات مماثلة لأتبـ ATP لكنها تحوي أساساً آزوتياً آخر عوضاً عن الأدينين وذلك بدءاً من نوكليوزيداتها ثنائية الفسفات بوجود الإنزيم كيناز النوكليوزيد ثنائي الفسفات، مثل:

UDP + ATP ⟷ (كيناز النوكليوزيد ثنائي الفسفات) UTP + ADP (يوريدين ثلاثي فسفات)

GDP + ATP ⟷ GTP + ADP (جوانوزين ثلاثي فسفات)

CDP + ATP ⟷ CTP + ADP (سيتيدين ثلاثي فسفات)

حيث تقوم جميع هذه المركبات ثلاثية الفسفات بعمليات الفسفتة في الخلية.

وعلى نحـو مشابه، يقوم كيناز النوكليوزيد أحادي الفسفات، النوعي لكل من نوكليوزيد بوريني أو بيريميديني، بتحفيز تشكيل النوكليوزيد ثنائي الفسفات من أحادي الفسفات الموافق.

ATD + نيوكليوزيد − (P) ⟷ (كيناز نوعي للنوكليوزيد أحادي الفسفات) ADP + نوكليوزيد -(P)~(P)

وبالتالي فإن كيناز الأدينيلات هو كيناز أحادي فسفات متخصص.

الخلاصة:

1 – تكون الجمل الحيوية متساوية حرارياً وتستخدم الطاقة الكيميائية لتأمين جريان عملياتها الحياتية.

2 – تجري التفاعلات تلقائياً عندما يكون هناك فقدان للطاقة الحرة (ΔG تكون سالبة) أي تكون مطلقة للطاقة. وإذا كانت ΔG موجبة، فالتفاعل سيحدث فقط عندما تزداد الطاقة الحرة، أي يكون التفاعل ماصاً للطاقة.

3 – تجري العمليات الماصة للطاقة فقط عندما تقترن مع العمليات المطلقة للطاقة.

4 – يعمل الأتب ATP كعملة طاقية تتداولها الخلية، فهو ينقل الطاقة الحرة الناجمة عن المواد ذات الكمون الطاقي الأعلى إلى تلك ذات الكمون الطاقي الأخفض.

-

*** References:**

De Meis L: The concept of energy-rich phosphate compounds: Water, transport ATPases, and entropy energy. *Arch Biochem Biophys* 1993; 306:287.

Ernster L (editor): *Bioenergetics.* Elsevier, 1984.

Harold FM : *The Vital Force: A Study of Bioenergetics.* Freeman, 1986.

Klotz IM : *Introduction to Biomolecular Energetics.* Academic Press, 1986.

Krebs HA, Kornberg HL : *Energy Transformations in Living Matter.* Springer, 1957.

الفصل الثالث عشر

الأكسدة الحيوية

Biologic Oxidation

مقدمة:

تعرف عملية الأكسدة (Oxidation) من الناحية الكيميائية بأنها خسارة إلكترونات، وعملية الإرجاع (الاختزال: Reduction) بأنها كسب إلكترونات، كما هو مبين في أكسدة أيون الحديديك إلى أيون الحديد:

$$Fe^{2+} \xrightarrow{-e^-} Fe^{3+}$$

وبالضرورة فإن الأكسدة تترافق دائماً بإرجاع متقبل إلكتروني. وينطبق مبدأ الأكسدة والإرجاع هذا على الجمل الكيميائية الحيوية على حد سواء، كما أنه مفهوم مهم وأساسي من أجل فهم طبيعة الأكسدة الحيوية. ويجب أن ندرك بأن العديد من تفاعلات الأكسدة الحيوية يمكن أن يجري دون اشتراك الأكسجين الجزيئي مثل تفاعلات نزع الهيدروجين.

الأهمية الطبية البيولوجية:

على الرغم من أن بعض الجراثيم اللاهوائية (Anaerobes) تبقى على قيد الحياة دون وجود الأكسجين، إلا أن حياة الحيوانات الأرقى تكون معتمدة بشكل مطلق على التزويد المستمر بالأكسجين. إن الاستخدام الأساسي للأكسجين هو في عملية

التنفس (Respiration)، وهي العملية التي تحصل الخلايا من خلالها على الطاقة بشكل أتب ATP بتفاعل منظَّم يتم فيه اتحاد الهيدروجين مع الأكسجين لتشكيل الماء. إضافة إلى ذلك، ينجبل الأكسجين الجزيئي في عدد كبير متنوع من الركائز بتوسط إنزيمات تسمى الأكسيجيناز؛ نذكر منها جملة السيتوكروم P450، التي تستقلب العديد من الأدوية والملوثات والمسرطنات الكيميائية (Xenobiotics). إن إعطاء الأكسجين قد ينقذ الحياة عند معالجة المرضى الذين يعانون قصوراً في التنفس أو في الدورة الدموية، وأحياناً فإن إعطاء الأكسجين بضغط عال (العلاج بالأكسجين مفرط الضغط (Hyperbaric) يكون له نتائج مهمة، مع أنه قد يؤدي إلى سمية الأكسجين.

يمكن التعبير عن تبدلات الطاقة الحرة بمصطلح كمون الخزلدة (الأكسدة والاختزال):

إن تبدل الطاقة الحرة في تفاعلات الأكسدة والاختزال، يتناسب مع ميل المتفاعلات لإعطاء أو لقبول الكترونات. لذلك فبالإضافة إلى التعبير عن تبدل الطاقة الحرة بالمصطلح ΔG° (الفصل 12)، فإنه يمكننا بأسلوب مشابه أن نعبر عن تبدل الطاقة الحرة رقمياً بكمون الأكسدة ـ الأكسدة والاختزال (الإرجاع) أو كمون الخزلدة ($E`_0$) (Redox) وهو يقارن عادة بين كمون الخزلدة لجملة ما (E0) مع كمون مسرى الهيدروجين الذي يكون عند درجة باهاء صفر (pH=0) مساوياً لصفر ڤولط.

أما في الجمل الحيوية، فإنه من الطبيعي أن يعبر عن كمون الخزلدة ($E`_0$) عند درجة الباهاء 7، التي يكون عندها كمون مسرى الهيدروجين مساوياً لـ 0.42 ـ ڤولط. ويعرض (الجدول 13-1) كمونات الخزلدة لبعض جمل الأكسدة ـ الاختزال ذات الأهمية الخاصة في الكيمياء الحيوية عند الثدييات. ويمكن من خلال المواضع النسبية لجمل الخزلدة في هذا الجدول أن نتنبأ باتجاه جريان الإلكترونات من زوج خزلدة إلى آخر.

تسمى الإنزيمات المشاركة في تفاعلات الأكسدة والاختزال بالمؤكسدة ـ المرجعة:

تصنف الإنزيمات المؤكسدة المرجعة (Oxidoreductases)، في النص التالي،

ضمن أربع مجموعات هي الأكسيداز ونازعات الهيدروجين والهيدروبيروكسيداز والأكسيجيناز.

تستخدم إنزيمات الأكسيداز الأكسجين كمتقبل للهيدروجين:

تحفز الأكسيداز نزع الهيدروجين من الركيزة باستخدام الأكسجين كمتقبل للهيدروجين[1]. وهي تشكل الماء أو بيروكسيد الهيدروجين (الماء الأكسجيني) كناتج عن التفاعل (الشكل 13-1).

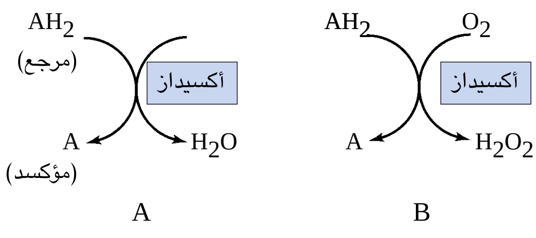
الجملة	E'_0 ڤولط
H^+/H_2	-0.42
$NAD^+/NADH$	-0.32
ليبوات: أكسدة / إرجاع	-0.29
أسيتواسيتات / 3–هيدروكسي بوتيرات	-0.27
بيروڤات / لاكتات	-0.19
أكسالوأسيتات / مالات	-0.17
فومارات / سكسينات	+0.03
سيتوكروم b ; Fe^{2+} / Fe^{3+}	+0.08
يوبيكينون؛ أكسدة / اختزال	+0.10
سيتوكروم C_1؛ أكسدة / اختزال	+0.22
سيتوكروم a; Fe^{2+} / Fe^{3+}	+0.29
أكسجين / ماء	+0.85

الجدول 13-1 : بعض كمونات الخزلدة ذات الأهمية الخاصة لجمل الأكسدة عند الثدييات.

[1] – *يطلق مصطلح الأكسيداز أحياناً للدلالة بشكل كامل على جميع الإنزيمات المحفزة للتفاعلات التي يشترك فيها الأكسجين الجزيئي.*

تحتوي بعض إنزيمات الأكسيداز على النحاس:

أكسيداز السيتوكروم هو بروتين هيمي واسع الانتشار في العديد من الأنسجة، ويحوي في بنيته زمرة الهيم الضميمة النموذجية الموجودة في الميوجلوبين، والهيموجلوبين وفي السيتوكرومات الأخرى (الفصل 7). وهو المكون النهائي في سلسلة النواقل التنفسية الموجودة في المتقدرات وهو بذلك مسؤول عن التفاعل الذي يتم فيه انتقال الإلكترونات الناتجة عن أكسدة جزيئات الركائز بوساطة نازعات الهيدروجين إلى متقبلها النهائي أي الأكسجين. ويتثبط هذا الإنزيم عند الانسمام بأول أكسيد الكربون والسيانيد وسلفيد الهيدروجين. وهو يسمى أيضاً بالسيتوكروم a_3، حيث افترض سابقاً بأن السيتو كروم a والسيتو كروم a_3 مركبان منفصلان، لأن لكل منهما طيف مميز وخصائص مختلفة من حيث تأثرهما بأول أكسيد الكربون والسيانيد. ولقد أوضحت الدراسات الأخيرة بأن السيتوكرومان a و a_3 مرتبطان مع بروتين واحد، لذلك يعرف هذا المركب بالسيتو كروم $a\ a_3$. وهو يضم جزيئين من الهيم، يحمل كل منهما ذرة حديد Fe واحدة تتأرجح بين حالتي Fe^{3+} و Fe^{2+} في أثناء تفاعلات الأكسدة والاختزال، إضافة إلى ذلك، يوجد فيه ذرتا نحاس Cu، كل واحدة منها مرتبطة مع وحدة هيم.



الشكل 13-1 : أكسدة متأيض ما بتحفيز أكسيداز (A)لتشكيل H_2O، أو بتحفيز أكسيداز (B) فيتشكل H_2O_2.

إنزيمات الأكسيداز الأخرى هي الفلاڤوبروتينات (البروتينات الفلاڤينية):

تحوي الإنزيمات الفلاڤوبروتينية الفلافين أحادي النوكليوتيد (FMN) أو الفلاڤين أدينين ثنائي النوكليوتيد (FAD) كزمر ضميمة فيها. يتشكل FMN (الشكل 52-2) و FAD (الشكل 52-3) في الجسم بدءاً من ڤيتامين الريبوفلاڤين (الفصل 52).

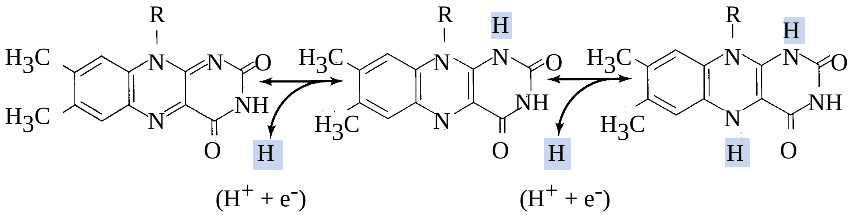
يرتبط FMN و FAD عادة بشكل قوي ـ لكن ليس تكافؤياً ـ مع صميم البروتين الإنزيمي الخاص بكل منها. ويحوي العديد من الإنزيمات الفلاڤوبروتينية واحد أو أكثر من العناصر المعدنية كتمائم عاملة (Cofactors) أساسية فتسمى عندئذ بالإنزيمات الفلاڤوبروتينية المعدنية (Metalloflavoproteins).

من الإنزيمات التي تتبع لهذه الزمرة من الأكسيداز، نذكر أكسيداز الحمض الأميني -L وهو إنزيم مرتبط بـ FMN، يوجد في الكلية ويتمتع بنوعية عامة لنزع الأمين التأكسدي من الأحماض الأمينية -L المتوافرة في الحالة السوية. وهناك أكسيداز الزانثين، وهو إنزيم واسع الانتشار، يوجد في الحليب والأمعاء الدقيقة والكلية والكبد. وهو يحتوي معدن المولبدنيوم و يلعب دوراً مهماً في تحويل الأسس البورينية إلى حمض اليوريك (الفصل 36). وهو من الأهمية على نحو خاص في الكبد والكلية عند الطيور، التي تفرغ حمض اليوريك كناتج نهائي نتروجيني رئيسي، لكن ليس فقط من أيض البورين، بل أيضاً من تقويض الأحماض الأمينية والبروتينات.

نازعة هيدروجين الألدهيد وهو إنزيم مرتبط بـ FAD، يوجد في كبد الثدييات، وهو من الفلاڤوبروتينات المعدنية إذ أنه يحوي المولبدنيوم وحديد غير هيمي، ويؤثر في الألدهيدات والركائز الحلقية النتروجينية المتغايرة.

ونذكر أخيراً أكسيداز الجلوكوز وهو مهم لأنه يستخدم في قياس الجلوكوز وهو نوعي لـ FAD ويتم تحضيره من الفطور.

إن آليات الأكسدة والإرجاع الخاصة بهذه الإنزيمات غاية في التعقيد، ومع ذلك فإن الدلائل تشير إلى أن إرجاع حلقة الأيزوالوكسازين يجري على مرحلتين بتشكيل وسيط هو كينون نصفي (جذر حر) (الشكل 13-2).



الشكل 13-2 : أكسدة واختزال حلقة الإيزوألوكسازين في النوكليوتيدات الفلاڤينية.

لا تستطيع نازعات الهيدروجين استخدام الأكسجين كمتقبل للهيدروجين

يوجد عدد كبير من الإنزيمات في هذا الصف، وهي تنجز وظيفتين رئيستين:

1 – نقل الهيدروجين من ركيزة إلى أخرى في تفاعل أكسدة ـ اختزال مقترن (الشكل 13-3). حيث يكون لنازعات الهيدروجين هذه نوعية تجاه ركائزها، لكنها كثيراً ما تستخدم ذات التميم الإنزيمي أو ذات الحامل الهيدروجيني كما هو الحال عليه بالنسبة لنازعات الهيدروجين الأخرى مثل NAD^+. ونظراً لأن تفاعلاتها عكسية، فإن هذه الخصائص تمكنها من إرجاع المكافئات لتنتقل بحرية ضمن الخلية. وبإمكان هذا النمط من التفاعلات أكسدة ركيزة ما على حساب ركيزة أخرى، لذلك فهو مفيد على نحو خاص في تمكين حدوث العمليات التأكسدية في غياب الأكسجين، كما هو الحال في أثناء الطور اللاهوائي من تحلل السكر (الشكل 19-2).

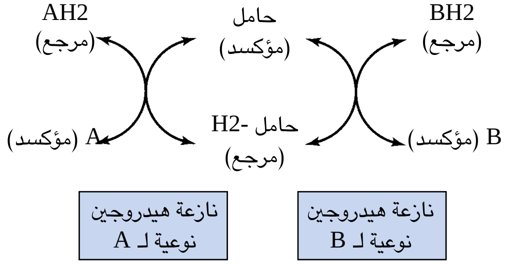
2 – تعمل كمكونات في السلسلة التنفسية لنقل الإلكترونات من الركيزة إلى الأكسجين (الشكل 13-4).

تعتمد العديد من نازعات الهيدروجين على تمائم النيكوتيناميد الإنزيمية:

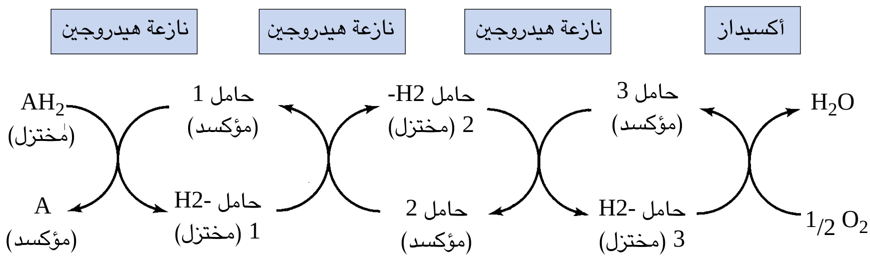
يكون العديد من نازعات الهيدروجين نوعية إما للنيكوتيناميد أدينين ثنائي

النوكليوتيد (NAD^+) أو للنيكوتيناميد أدينين ثنائي النوكليوتيد المفسفت ($NADP^+$) وذلك كتميم للإنزيم. لكن هناك بعض نازعات الهيدروجين التي تستطيع استخدام إما NAD^+ أو $NADP^+$ على حد سواء. ويتشكل NAD^+ و$NADP^+$ في الجسم بدءاً من ڤيتامين النياسين (Niacin) (الشكل 52-4). وترجع التمائم الإنزيمية بركيزة نوعية لنازعة الهيدروجين ويُعاد أكسدتها بمتقبل إلكتروني مناسب (الشكل 13-5). وخلافاً لكل من FMN و FAD^+ يمكن لهذه التمائم الإنزيمية أن تنفصل بحرية وبشكل عكسي عن صمائمها الإنزيمية الموافقة لها.

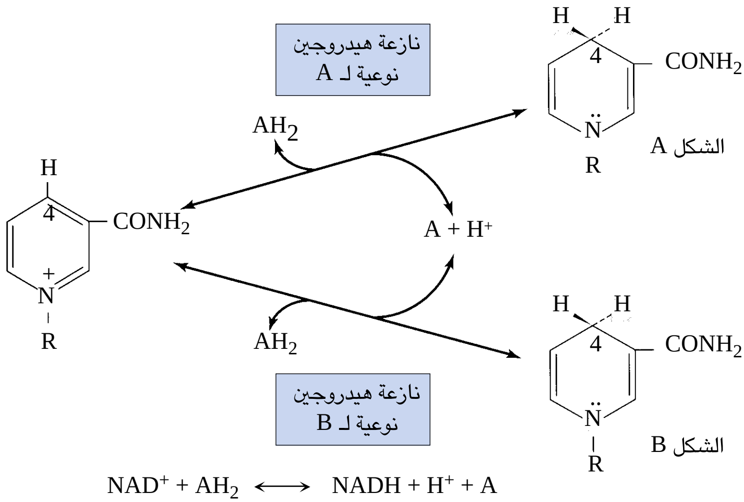
تقوم نازعات الهيدروجين المرتبطة بـ NAD عموماً بتحفيز تفاعلات الأكسدة والإرجاع في مسالك الأيض التأكسدي، وبخاصة في سبيل تحلل السكر وفي دورة حمض السيتريك، وفي السلسلة التنفسية بالمتقدرات، في حين تتواجد نازعات الهيدروجين المعتمدة على NADP على نحو مميز في سُبُل التخليق الإرجاعي، كما هو الحال في سبيل تخليق الأحماض الدهنية والستيرويدات، الواقع خارج المتقدرات. وهي توجد أيضاً كتمائم إنزيمية لنازعات الهيدروجين في سبيل البنتوزفسفات. ولقد تبين أن بعض نازعات الهيدروجين المعتمدة على النيكوتيناميد كتميم إنزيمي تحوي معدن الزنك Zn، وكمثال بارز نذكر نازعة هيدروجين الكحول في الكبد ونازعة هيدروجين الجليسرالدهيد – 3 – فسفات في العضلات الهيكلية. علماً أن الأيونات الزنك لا تلعب أي دور في تفاعلات الأكسدة والاختزال التي تقوم بها هذه الإنزيمات.



الشكل 13-3 : أكسدة متأيض ما بتحفيز نازعتي هيدروجين مقترنتين.



الشكل 13-4 : أكسدة مستقلب ما بنازعات هيدروجين وفي النهاية بوساطة اكسيداز في سلسلة تنفسية.



الشكل 13-5 : آلية أكسدة واختزال تمائم النيكوتيناميد الإنزيمية. توجد نوعية فراغية حول الموضع 4 في النيكوتيناميد وذلك عند ما يتم اختزاله بالركيزة AH2. تنزع واحدة من ذرات الهيدروجين من الركيزة لأنه يوجد إلكترونان في نواة الهيدروجين (أيون الهيدريد، H) وتنقل إلى الموضع 4، حيث قد ترتبط إما في الموضع A أو في B بحسب النوعية المحددة بنازعة هيدروجين خاصة والتي تحفز التفاعل. أما الهيدروجين المتبقي من الزوج الهيدروجيني المنزوع من الركيزة فإنه يبقى حراً كأيون هيدروجين.

تعتمد نازعات هيدروجين أخرى على الريبوفلافين:

تكون زمر الفلافين المرتبطة مع نازعات الهيدروجين هذه مماثلة FMN و لـ FAD الموجودة في إنزيمات الأكسيداز وبشكل عام يكون ارتباط التمائم الفلافينية بصمائمها الإنزيمية أكثر إحكاماً مما هو عليه بالنسبة لتمائم النيكوتيناميد الإنزيمية. تعمل معظم نازعات الهيدروجين المرتبطة بالريبوفلافين بالنقل الإلكتروني في (أو إلى) السلسلة التنفسية (الفصل 14). إن نازعة هيدروجين الـ NADH هي إحدى مكونات السلسلة التنفسية وتعمل كناقل للإلكترونات بين NADH والمكونات ذات كمون الخزلدة الأعلى في السلسلة (الشكل 14-3). في حين أن نازعات هيدروجين أخرى مثل نازعة هيدروجين السكسينات ونازعة هيدروجين أسيل -CoA ونازعة هيدروجين جليسرول –3– فسفات المتقدرية، تقوم بنقل المكافئات المرجعة مباشرة من الركيزة إلى السلسلة التنفسية (الشكل 14-4). إن الدور الآخر الذي تقوم به نازعات الهيدروجين المعتمدة على الفلافين هو نزع الهيدروجين من الليبوات المرجعة (بوساطة نازعة هيدروجين ثنائي هيدروليبويل) والتي هي مركب متوسط في تفاعل نزع الكربوكسيل التأكسدي لكل من البيروڤات و α – كيتوجلوتارات (الشكل 14-4). وفي هذه الحالة الخاصة، وبسبب كمون الخزلدة المنخفض، يعمل الفلاڤوبروتين (FAD) كناقل للهيدروجين من الليبوات المرجعة إلى NAD (الشكل 5-19). كما أن الفلاڤوبروتين الناقل للإلكترون يعمل كناقل متوسط للالكترونات بين نازعة هيدروجين أسيل -CoA والسلسلة التنفسية (الشكل 14-4).

يمكن أن تعد السيتوكرومات أيضاً كنازعات هيدروجين:

باستثناء أكسيداز السيتوكروم (الذي تحدثنا عنه سابقاً)، يمكن تصنيف السيتوكرومات أيضاً كنازعات هيدروجين. فلقد أضحت دراستها والتعرف عليها سهلة مع وجود عصائب امتصاص مميزة لها في حالة الإرجاع واختفاء هذه العصائب بحالة الأكسدة. وهي تعمل في السلسلة التنفسية كنواقل للإلكترونات من الفلاڤو بروتينات من جهة أولى إلى أكسيداز السيتوكروم في الجهة الأخرى (الشكل 14-4). والسيتوكرومات هي بروتينات هيمية تحوي ذرة حديد تتأرجح فيها

بين الحالتين Fe^{3+} و Fe^{2+} في أثناء تفاعلات الأكسدة والإرجاع. ويوجد العديد من السيتوكرومات المعروفة جيداً في السلسلة التنفسية أي السيتوكرومات b و C_1 و C و a و a_3 (أكسيداز السيتوكروم). يكون واحد منها فقط هو السيوتوكروم C والذي يكون منحلاً بالماء. وإلى جانب السلسلة التنفسية توجد السيتوكرومات أيضاً في مواضع أخرى مثل الشبكة الهيولية الباطنية (السيتوكرومات P450 و b5) وفي الخلايا النباتية والجراثيم والخمائر.

تستخدم إنزيمات الهيدروبيروكسيداز البيروكسيد الهيدروجيني أو البيروكسيد العضوي كركيزة:

يوجد نمطان من الإنزيمات ضمن هذه الفئة هما إنزيمات البيروكسيداز (Peroxidases) والكاتالاز (Catalase)، وكلاهما موجود في الحيوانات والنباتات على حد سواء.

تقوم الهيدروبيروكسيداز بحماية الجسم من البيروكسيدات (فوق الأكاسيد) الضارة. لأن تراكم هذه البيروكسيدات قد يؤدي إلى توليد الجذور الحرة، التي تقوم بدورها بتخريب الغشاء الخلوي، ومن المحتمل أن تسبب السرطان والتصلب العصيدي (Atherosclerosis) (انظر الفصلين 16 و 53 للاطلاع على مناقشة وإيجاز آليات الدفاع ضد الجذور الحرة).

تقوم إنزيمات البيروكسيداز بإرجاع البيروكسيدات باستخدام متقبلات إلكترونية مختلفة:

على الرغم من أن البيروكسيداز كانت تعد في الأصل إنزيمات نباتية، لكن تبين أنها موجودة في الحليب والكريات البيضاء والصفيحات وفي أنسجة أخرى تساهم بأيض الإيكوزانويد (Eicosanoid) (الفصل 25). حيث إن الزمرة الضميمة في هذه الإنزيمات هي الهيم الأولي «البروتوهيم» (Protoheme)، والتي خلافاً لما هو الحال عليه في معظم البروتينات الهيمية، ترتبط بشكل ضعيف مع الصميم البروتيني. يقوم

البيروكسيداز بتحفيز تفاعل يتم فيه إرجاع بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)على حساب ركائز متعددة تعمل هنا كمتقبلات إلكترونية، مثل الأسكوربات والكوينونات والسيتوكروم C. ويعد هذا التفاعل من التفاعلات المعقدة، ويمكن إجماله بالشكل التالي:

$$H_2O_2 + AH \xrightarrow{\text{بيروكسيداز}} 2H_2O + A$$

في الكريات الحمراء وفي أنسجة أخرى، يقوم إنزيم بيروكسيداز الجلوتاثيون (Glutathione peroxidase)، الذي يحوي معدن السيلينيوم (Selenium) كزمرة ضميمة، بتحفيز تفاعل تحطيم H_2O_2 والهيدروبيروكسيدات الشحمية بوساطة الجلوتاثيون المرجع، واقياً بذلك الدهون الغشائية والهيموجلوبين من التأكسد بالبيروكسيدات (الفصل 22).

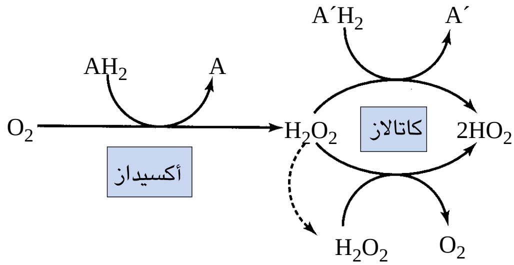
استخدم الكاتالاز بيروكسيد الهيدروجين كمانح وكمتقبل للإلكترونات:

يحوي الكاتالاز بروتين هيمي أربع زمر من الهيم. وبالإضافة إلى أنه يتمتع بفعالية إنزيمات البيروكسيداز، فالكاتالاز قادر على استخدام جزيء واحد من H_2O_2 كركيزة مانحة للإلكترون وجزيء أخر من H_2O_2 كركيزة متقبلة للإلكترون أو كمؤكسد.

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{كاتالاز}} 2H_2O + O_2$$

ويبدو أن فعالية الكاتالاز البيروكسيدازية هي السائدة في معظم الظروف الموجودة في داخل الجسم (in vivo). يوجد الكاتالاز في الدم ونخاع العظام والأغشية المخاطية والكلية والكبد. حيث من المفترض أن وظيفته تتلخص في تحطيم بيروكسيد الهيدروجين الناجم عن تفاعلات إنزيمات الأكسيداز. توجد الجسيدات (Microbodies) أو الجسيمات البيروكسية (Peroxisomes) في العديد من الأنسجة، بما فيها الكبد. وهي غنية بإنزيمات الأكسيداز و الكاتالاز، وهذا يدعو إلى القول بأنه قد يكون هناك فائدة حيوية من تجميع الإنزيمات التي تولد H_2O_2 مع الإنزيم الذي يحطمه (الشكل 13-6). وبالإضافة إلى إنزيمات الجسيمات البيروكسية، فإنه يمكن

اعتبار عملية نقل الالكترونات في الجسيمات الصغرية (الصغرويات Microsomes) والمتقدرات وكذلك أكسيداز الزانثين كمصادر لـ H_2O_2.



الشكل 13-6 : دور الكاتالاز في تخريب بيروكسيد الهيدروجين.

تحفز إنزيمات الأكسيجيناز النقل المباشر واندماج الأكسجين في جزيء الركيزة:

يرتبط عمل الأكسيجيناز بعمليات تخليق أو تقويض لأنماط كثيرة ومختلفة من المستقلبات وبشكل يفوق ارتباطها بتفاعلات يكون الهدف فيها تأمين الطاقة للخلية. وتحفز الإنزيمات في هذه المجموعة عملية دمج الأكسجين ضمن جزيء الركيزة، ويتم ذلك في مرحلتين (1) ارتباط الأكسجين بالإنزيم في المقر الفعال و (2) تفاعل يتم فيه إرجاع الأكسجين المرتبط أو نقله إلى الركيزة. ويمكن تقسيم إنزيمات الأكسجيناز إلى زمرتين:

ثنائية الأكسيجيناز التي تدمج ذرتي الأكسجين الجزيئي في الركيزة

التفاعل الأساسي هو كما يلي:

$$A + O_2 \longrightarrow AO_2$$

ونذكر كأمثلة عن هذا النمط الإنزيمات التي تحوي الحديد مثل ثنائي أكسيجيناز الهوموجنتيسات (من الأكسيداز) وثنائي أكسيجيناز 3 ـ هيدروكسي انترانيلات (من الأكسيداز) التي توجد في الجزء الطافي من الكبد، وكذلك الإنزيمات التي تستعمل الهيم، مثل ثنائي أكسيجيناز L- ترتوفان (بيرولاز التربتوفان) الذي يوجد في الكبد (الفصل 32).

أحادية الأكسيجيناز (وهي ذات وظيفة مختلطة: أكسيداز وهيدركسيلاز) التي تدمج ذرة واحدة فقط من الأكسجين الجزيئي في الركيزة:

أما ذرة الأكسجين الأخرى فيتم إرجاعها إلى الماء، لذلك من الضروري وجود ركيزة مساعدة أو مانح إلكتروني إضافي لهذه الغاية.

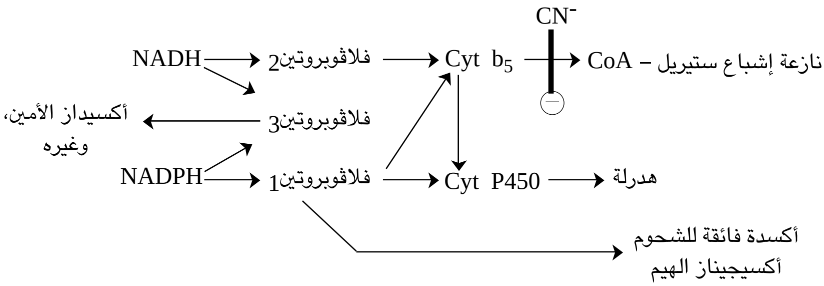
$$A\text{-}H + O_2 + ZH_2 \longrightarrow A\text{-}OH + H_2O + Z$$

لجملة أحادية أكسيجيناز السيتوكروم P450 في الجسيمات الصغرية أهمية في تفاعل هدرلة العديد من الأدوية

توجد إنزيمات أحادية الأكسيجيناز هذه في الجسيمات الصغرية الكبدية إلى جانب السيتوكروم P450 والسيتوكروم b5. ويقوم كل من NADH و NADPH بإعطاء المكافئات المرجعة من أجل هذه السيتوكرومات (الشكل 13-7)، والتي تؤكسد بدورها بوساطة ركائز في سلسلة من التفاعلات الإنزيمية تعرف إجمالاً بدورة الهيدروكسيلاز (Hydroxylase cycle) (الشكل 13-8).

$$\text{دواء} - H + O_2 + 2Fe^{2+}{}_{(P450)} + 2H^+ \xrightarrow{\text{هيدروكسيلاز}} \text{دواء} - OH + H_2O + 2Fe^{3+}{}_{(P450)}$$

ومن بين الأدوية التي تستقلب بهذه الجملة نذكر البنزبيرين والأمينوبيرين والأنيلين والمورفين والبنزفيتامين. كما أن العديد من الأدوية مثل الفينوباربيتال له قدرة على تحريض تشكيل إنزيمات الجسيمات الصغرية وأيضاً السيتوكروم P450.



الشكل 13-7 : سلسلة نقل الإلكترونات في الجسيمات الصغرية. يثبط السيانيد -CN الخطوة المشار إليها في السلسلة.

تحفز جمل إنزيمات أحادية أكسيجيناز السيتوكروم P450 المتقدرية تفاعلات هدرلة الستيرويدات:

توجد هذه الجمل في الأنسجة المولدة للستيرويدات مثل قشر الكظر والخصية والمبيض والمشيمة وهي تشترك في سبل التخليق الحيوي للهرمونات الستيرويدية بدءاً من الكوليسترول (تفاعلات هدرلة Hydroxylation– أي ضم زمرة هيدروكسيل ـ OH ـ للكربون 22 وللكربون 20 عند انشطار السلسلة الجانبية للكوليسترول، وفي المواقع β 11 و 18 ولغيرها من المواقع والمركبات). وتحفز الجمل الإنزيمية الكلوية تفاعلات الهدرلة في المواقع 1 –α و 24 لمركب 25– هيدروكسي كوليكلسيفرول، ويقوم الكبد بتحفيز الهدرلة بالموقع 26 في سبيل التخليق الحيوي للأحماض الصفراوية.

والجدير ذكره هنا، أنه في قشر الكظر تكون جملة السيتوكروم P450 المتقدرية متوافرة بكمية أكبر بست مرات من كمية السيتوكرومات في السلسلة التنفسية.

قد يكون الجذر الحر فوق الأكسيدي مسؤولاً عن سمية الأكسجين:

كانت السمية الكامنة للكسجين تعزى حتى الآن إلى تشكل H_2O_2 لكن مؤخراً، وعلى ضوء السهولة التي يتم بها إرجاع الأكسجين في الأنسجة ليتشكل الجذر الحر (Free Radical) «صاعدة فوق الأكسيدي» (O_2^-) وبسبب وجود إنزيم دسموتاز فوق الأكسيدي (Superoxide dismutase)عند الكائنات الهوائية (وليس عند الكائنات اللاهوائية حكماً)، فلقد افترض بأن سمية الأكسجين تنجم عن تحوله إلى فوق الأكسيدي.

يتشكل جذر فوق الأكسيدي عندما تتم إعادة الأكسدة أحادية التكافؤ للفلاڤينات المرجعة التي توجد على سبيل المثال في أكسيداز الزنتين بوساطة الأكسجين الجزيئي.

$$\text{إنزيم ـ فلاڤين ـ } H_2 + O_2 \longrightarrow \text{إنزيم ـ ڤلافين ـ } H + O_2^{\cdot-} + H^+$$

ويستطيع جذر فوق الأكسيدي إرجاع السيتوكروم C المؤكْسَد.

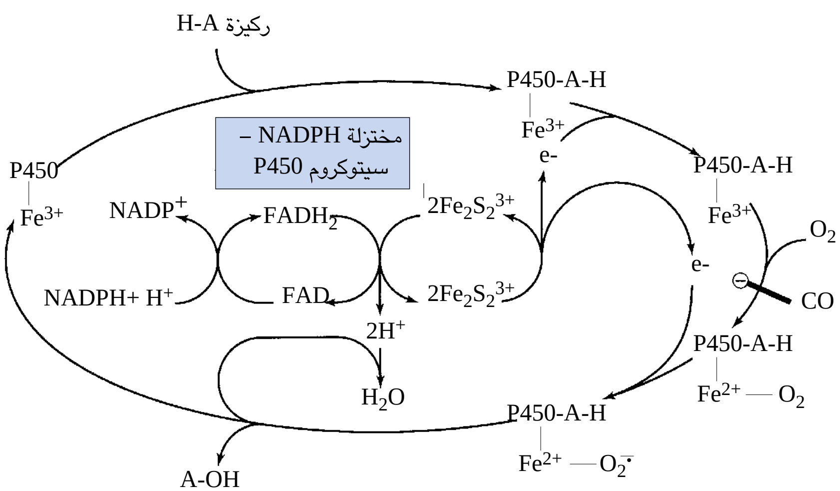
$$O_2^{\cdot-} + (Fe^{3+})C\text{السيتوكروم} \longrightarrow O_2 + (Fe^{2+})C\text{ السيتوكروم}$$

أو يمكن التخلص من $O_2^{\cdot-}$ بوجود إنزيم نوعي هو دسموتاز فوق الأكسيدي. حيث يعمل جذر فوق الأكسيدي في هذا التفاعل كمؤكسد وكمرجع على حد سواء. وتتوسع التأثيرات الكيميائية لهذا الجذر الحر في النسج لأنه يكون باعثاً على حدوث سلسلة من التفاعلات المتواسطة بالجذور الحرة (الفصل 16)، ولقد كان مفترضاً أن المرتبط بالسيتوكروم P450 يتوسط تنشيط الأكسجين في تفاعلات الهدرلة (الشكل 13-18).

يبدو أن وظيفة دسموتاز فوق الأكسيدي هي حماية الكائنات الحيوائية من التأثيرات الخطيرة الكامنة $O_2^{\cdot-}$ لجذر. ويوجد هذا الإنزيم ضمن جوبات كثيرة ومختلفة في الخلية. حيث يتألف الإنزيم الموجود في العصارة الخلوية من وحيدتين (Subunits) متماثلتين، تحوي كل منها مكافئ واحد من النحاس Cu^{2+}، ومن الزنك

Zn^{2+}، أما الإنزيم المتقدري فيحوي المنجنيز Mn^{2+} على نحو مماثل للإنزيم الموجود في البكتريا.

تدعم هذه المعطيات الفرضية القائلة إن المتقدرات قد تطورت عن بدائي نواة (Prokaryote) دخل في تعايش مع حقيقي نواة أولي (Protoeukaryote) يوجد الدهنيوتاز في جميع الأنسجة الهوائية الرئيسة. وعلى الرغم من أن تعريض الحيوانات لجو يحوي 100 ٪ أكسجين يسبب ازدياداً تلاؤمياً بكمية الإنزيم، بخاصة في الرئتين، إلا أن التعرض المديد سيؤدي إلى تخرب الرئة ثم إلى الموت. وبالمقابل فإن مضادات المؤكسدات (ANTIOXIDANTS)، مثل α – توكوفيرول (الڤيتامين E) تعمل كلواقط للجذور الحرة فتخفض بالتالي سمية الأكسجين (الفصل 53).



الشكل 8-13 : دورة هيدروكسيلاز السيتوكروم P450 في الجسيمات الصغرية. حيث أن هذه الجملة المعروضة نموذجية بالنسبة لإنزيمات هيدروكسيلاز الستيرويدات في قشر الكظر. لا يحتاج هيدروكسيلاز السيتوكروم P450 في الجسيمات الصغرية الكبدية إلى البروتين حديد ـ سلفور Fe2S2. يثبط أحادي أكسيد الكربون (CO) الخطوة المشار إليها في الشكل.

الخلاصة:

1 – في الجمل الحيوية، كما في الجمل الكيميائية، تترافق الأكسدة (خسارة إلكترونات) دائماً مع إرجاع متقبل إلكتروني.

2 – تصنف الإنزيمات المؤكسدة المرجعة في أربع مجموعات: الأكسيداز ونازعات الهيدروجين والهيدروبيروكسيداز والأكسيجيناز.

3 – لإنزيمات الأكسيداز ونازعات الهيدروجين أدوار متعددة في الأيض، لكن كلا الصفين من الإنزيمات يلعب دوراً رئيسياً في عملية التنفس.

4 – تحمي إنزيمات الهيدروبيروكسيداز الجسم من التضرر بالجذور الحرة، وتتوسط إنزيمات الأكسيجيناز هدرلة الأدوية والستيرويدات.

5 – تنجم سمية الأكسجين عن الجذر الحر فوق الأكسيدي. وتتم وقاية الأنسجة من هذا الجذر بإنزيم نوعي هو الدسموتاز فوق الأكسيدي.

***References:**

Bonnett R: Oxygen activation and tetrapyrroles. *Essays Biochem* 1981;17:1.

Coon MJ et al: Cytochrome P450: Progress and predictions. *FASEB J* 1992;6:669.

Ernster L (editor): *Bioenergetics.* Elsevier, 1984.

Friedovich I: Superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem* 1975;44: 147.

Mannaerts GP. Van Veldhoven PP: Role of peroxisomes in mammalian metabolism. *Cell Biochem Funct* 1992: 10:141.

Nicholls DG: *Cytochromes and Cell Respiration.* Carolina Biological Supply Company, 1984.

Tolbert NE: Metabolic pathways in peroxisomes and gly" oxysomes. *Annu Rev Biochem* 1981:50:133.

Tyler DD: *The Mitochondrion in Health and Disease.* VCH Publishers, 1992.

Tyler DD, Sutton CM: Respiratory enzyme systems in mitochondrial membranes. In: *Membrane Structure ard Function* Vol. 5. Bittar EE (editor). Wiley, 1984.

Yang CS, Brady JF, Hong JY: Dietary effects on cytochromes P450, xenobiotic metabolism, and toxicity. *FASEB J* 1992:6:737.

الفصل الرابع عشر

السلسلة التنفسية والفسفتة التأكسدية

The Respiratory Chain and Oxidative Phosphorylation

مقدمة:

أطلق على المتقدرات مصطلح «محطة توليد الطاقة» في الخلية، لأنه يجري داخل هذا العضي (Organelle) اقتناص معظم الطاقة الناتجة عن تفاعلات الأكسدة التنفسية. وتسمى الجملة المتقدرية التي تقوم بربط عملية التنفس مع إنتاج الوسيط عالي الطاقة، أي ATP، بالفسفتة التأكسدية (Oxidative phosphorylation).

الأهمية الطبية البيولوجية:

تمكن الفسفتة التأكسدية الكائنات الحيوائية من اقتناص جزء من الطاقة الحرة المتوافرة في الركائز التنفسية يكون أكبر بكثير من ذلك الذي تحصل عليه الكائنات اللاهوائية. وتفسر النظرية الكيميائية التناضحية (Chemiosmotic theory) كيف يتم إنجاز ذلك. توجد عدة أدوية مثل، أموباربيتال (Amobarbital) وسموم مثل السيانيد (Cyanide) وأول أكسيد الكربون تثبط الفسفتة التأكسدية، وتؤدي عادة

إلى عواقب مميتة. كما تم التعرف على عدد من العيوب الوراثية في المتقدرات تشمل مكونات السلسلة التنفسية والفسفتة التأكسدية. حيث يظهر لدى المرضى اعتلال عضلي (Myopathy) واعتلال دماغي (Encephalopathy) وغالباً حماض لبني (Lactic acidosis).

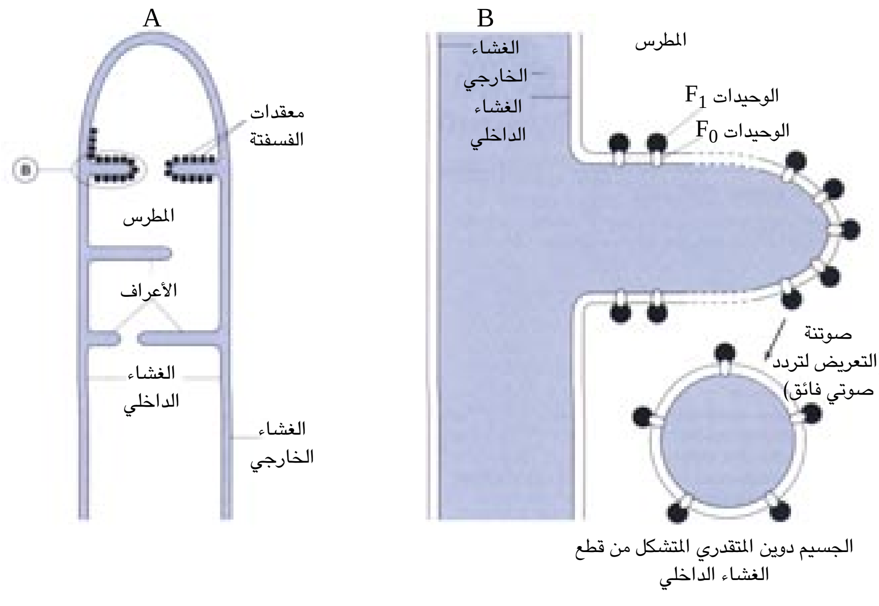
توجد إنزيمات نوعية تعمل كواسمات للأحياز المنفصلة عن بعضها بالأغشية المتقدرية:

تتألف المتقدرات من: غشاء خارجي يكون نفوذاً لمعظم المستقلبات، ومن غشاء داخلي ذي نفوذية انتقائية وهو ينطوي مشكلاً طيات أو أعرافاً، ومن مطرس (Matrix) (مطرق) ضمن الغشاء الداخلي (الشكل 14-1). يمكن فصل الغشاء الخارجي عند المعاملة بالديجيتونين، ويتميز هذا الغشاء بوجود أكسيداز أحادي الأمين وسنتاز أسيل -CoA وناقلة أسيل الجليسرول فسفات وناقلة أسيل الجليسرول فسفات أحادي الأسيل والفسفوليباز A2. وتوجد الإنزيمات: كيناز الأدينيلات وكيناز الكرياتين في الفراغ الواقع بين الغشائين. ويوجد شحم فسفوري هو الكارديوليبين (Cardiolipin) بتركيز عال في الغشاء الداخلي.

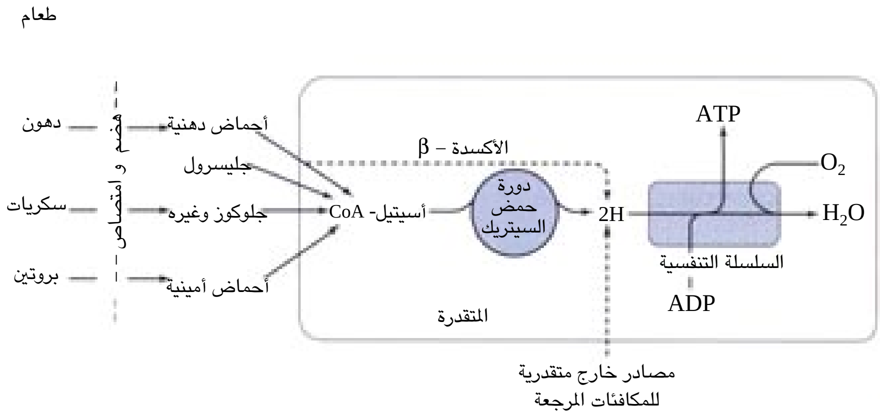
يحوي المطرس الإنزيمات الذوابة الخاصة بدورة حمض السيتريك وإنزيمات الأكسدة البتيائية (β-oxidation) للأحماض الدهنية، وهذا يستلزم توافر آليات لنقل المستقلبات والنوكلوتيدات عبر الغشاء الداخلي. توجد نازعة هيدروجين السكسينات على السطح الداخلي من الغشاء المتقدري الداخلي، حيث تقوم بنقل المكافئات المرجعة إلى إنزيمات السلسلة التنفسية التي هي المقومات الرئيسة في الغشاء الداخلي وتكون نازعة هيدروجين 3 – هيدروكسي بوتيرات (3 ـ Hydroxybutyrate-) مرتبطة أيضاً بالجانب الملاصق للمطرس من الغشاء المتقدري الداخلي. وتوجد نازعة هيدروجين جليسرول – 3 – فسفات على السطح الخارجي من الغشاء الداخلي، حيث يسمح لها موقعها الملائم بالمشاركة في مكوك (Shuttle) الجليسرول فسفات (الشكل 14-4).

تجمع السلسلة التنفسية المكافئات المرجعة وتؤكسدها:

إن كل الطاقة المفيدة المتحررة في أثناء أكسدة الأحماض الدهنية والأحماض الأمينية وتقريباً معظم الطاقة المتحررة من أكسدة السكريات تكون موجودة داخل المتقدرات على شكل مكافئات مرجعة (H – أو إلكترونات). وتحتوي المتقدرات سلسلة من الحفازات (Catalysts) تعرف باسم السلسلة التنفسية وهي تقوم بجمع ونقل المكافئات المرجعة وتوجيهها نحو تفاعلها الأخير مع الأكسجين لتشكيل الماء. كما يوجد في المتقدرات آلية خاصة لاقتناص الطاقة الحرة المتحررة وتحويلها إلى فسفات عالية الطاقة. وتحتوي المتقدرات أيضاً جمل من الإنزيمات المسؤولة في المقام الأول عن إنتاج معظم المكافئات المرجعة، أي إنزيمات الأكسدة بيتا وإنزيمات دورة حمض السيتريك. حيث هذه الأخيرة هي السبيل الأيضي المشترك النهائي لأكسدة كافة المواد الغذائية الأساسية. ويعرض الشكل (14-2) جميع هذه العلاقات.



الشكل 14-1 : بنية الأغشية المتقدرية. تكون الجسيمات دوين المتقدرية من انغماد الجانب الداخلي إلى الخارج وهي تسمح بدراسة جملة الأغشية المغلقة في حين تكون وحيدات الفسفتة على الخارج.

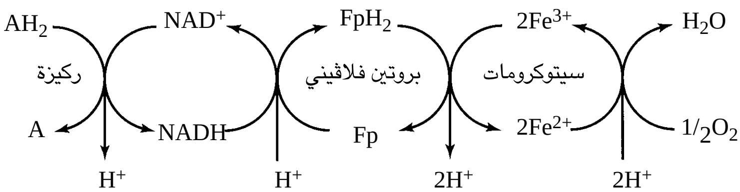


الشكل 14-2 : دور السلسلة التنفسية المتقدرية في تحويل طاقة الطعام إلى ATP. تؤدي أكسدة المواد الغذائية الرئيسة إلى توليد المكافئات المرجعة (2H) التي يجري تجميعها من قبل السلسلة التنفسية لكي تخضع للأكسدة وتوليد الـ ATP المقترن مع ذلك.

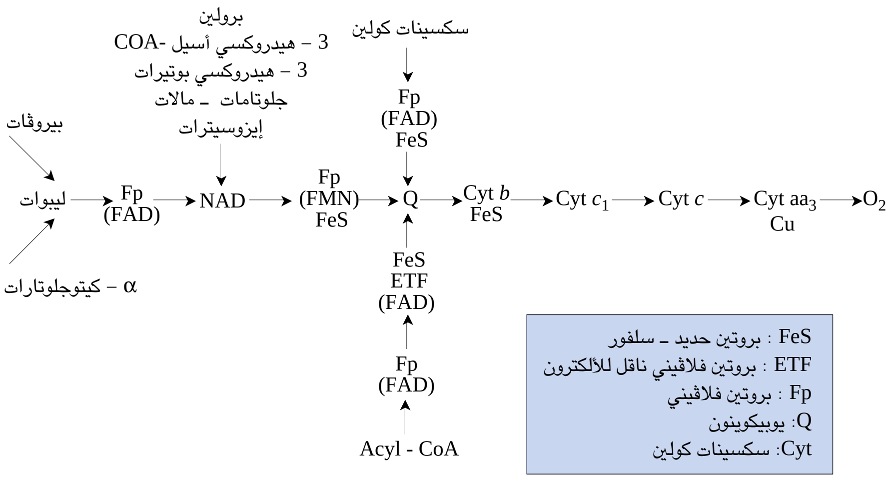
تكون مكونات السلسلة التنفسية مرتبة بحسب تزايد كمون الخزلدة:

يوضح (الشكل 14-3) المكونات الرئيسة للسلسلة التنفسية. ويتم جريان (انتقال) الإلكترونات والهيدروجين عبر السلسلة على مراحل: من المقومات ذات كمون الخزلدة الأكثر سلبية إلى المقومات ذات كمون الخزلدة الأكثر إيجابية (من الأكثر كهرسلبية إلى الأكثر كهرجابية)، من خلال فرق بكمون الخزلدة يساوي 1.1 ڤولطاً بدءاً من NAD^+ / NADH وانتهاء بـ O_2/H_2O (الجدول 13-1).

تتألف السلسلة التنفسية في المتقدرات من عدد من نواقل الأكسدة ـ الإرجاع التي تبدأ من جملة نازعات الهيدروجين المرتبطة بـ NAD وتمر بالفلاڤوبروتينات والسيتوكرومات، لتنتهي بالأكسجين الجزيئي. ولا ترتبط كافة الركائز بالسلسلة التنفسية عن طريق نازعات الهيدروجين النوعية للـ NAD ؛ فبعض هذه الركائز لها كمون خزلدة أكثر إيجابية (مثل الزوج فومارات / سكسينات؛ الجدول 14-1) لذلك فهي تكون مرتبطة بشكل مباشر بنازعات الهيدروجين المعتمدة على الفلاڤين، التي بدورها تكون مرتبطة بالسيتوكرومات في السلسلة التنفسية (الشكل 14-4).



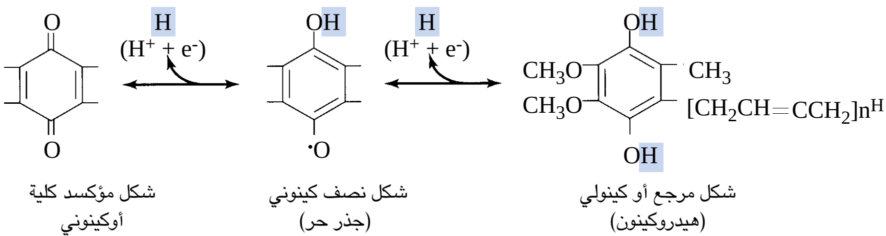
الشكل 14-3 : نقل المكافئات المرجعة خلال السلسلة التنفسية.



الشكل 14-4 : مكونات السلسلة التنفسية في المتقدرات والتي تبين نقاط تجميع المكافئات المرجعة من الركائز المهمة. يوجد FeS في تسلسلات من جهة O2 في البروتين الفلاڤيني أو السيتوكروم b.

لقد أصبح واضحاً بأنه يوجد ناقل إضافي في السلسلة التنفسية يقوم بربط بالفلاڤوبروتينات بالسيتوكروم b، والذي هو المكون ذو كمون الخزلدة الأخفض في سلسلة السيتوكرومات الموجودة في السلسلة التنفسية. توجد هذه المادة، التي سميت باليوبيكينون أو Q (تميم الإنزيم Q)؛ (انظرالشكل 14-5)، في المتقدرات على شكل كينون مؤكسد في الشروط الحيوائية، وعلى شكل كينول مرجع في الشروط اللاهوائية. ويعد Q أحد المقومات الدهنية في المتقدرات أما الأخرى فهي الشحميات الفوسفورية الأكثر سيادة، والتي تشكل جزءاً مهماً من الغشاء المتقدري.

إن بنية Q مشابهة كثيراً لبنية الڤيتامين K والڤيتامين E (الفصل 53). كما أنها تشبه مركب البلاستوكينون الموجود في الصانعات الخضراء (في النباتات). حيث تتميز جميع هذه المواد الموصوفة أعلاه باحتوائها سلسلة جانبية متعددة الايزوبرينوئيد، ويوجد في المتقدرات كميات كبيرة تفوق الحاجة من Q مقارنة مع المكونات الأخرى في السلسلة التنفسية حيث ينسجم ذلك مع طبيعة عمل Q كعنصر متحرك في السلسلة التنفسية التي تجمع المكافئات المرجعة من معقدات بالفلاڤوبروتينات الأكثر ثباتاً ثم تنقلها إلى السيتوكرومات.

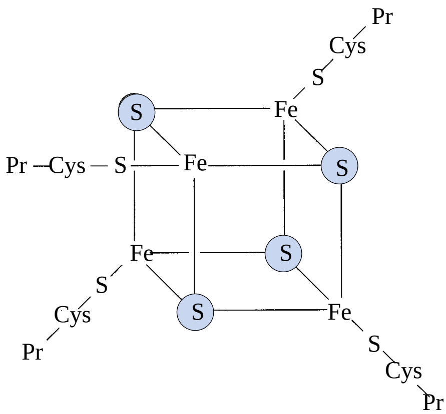


الشكل 14-5: بنية اليوبيكينون (Q). n = هي عدد وحدات الأيزو برينويد، التي تساوي 10 عند الحيوانات الراقية، أي Q_{10}.

وجد مركب إضافي في محضرات السلسلة التنفسية هو بروتين الحديد الكبريتي (Fe S حديد لاهيمي) (الشكل 14-6). وهو يكون مرتبطاً مع الفلاڤوبروتينات (بالفلاڤوبروتينات المعدنية) ومع السيتوكروم b. ويعتقد بأن للكبريت وللحديد دوراً في آلية الأكسدة والإرجاع بين الفلاڤين والتميم الإنزيمي Q، والتي تتضمن تبدلاً في إلكترون وحيد فقط، وتخضع ذرة الحديد لتفاعل أكسدة وإرجاع بين الحالتين: Fe^{2+} و Fe^{3+}.

يعرض الشكل 14-4 تسلسل مقومات السلسلة التنفسية وفق المنظور الحديث، ويتضح من هذا الشكل أن الإنزيمات نازعة الهيدروجين تحفز نقل الإلكترونات من الركائز إلى NAD في السلسلة، حيث ينجز ذلك بطرق عديدة ومختلفة. ففي حالة الأحماض الكيتونية ألفا مثل «البيروڤات و α ـ كيتوجلوتارات» التي تنقل الإلكترونات منها بوساطة جمل معقدة من نازعات الهيدروجين وتمرر الإلكترونات إلى الليبوات و FAD (تمائم تعتمد عليها نازعات الهيدروجين هذه في التفاعل المعقد متعدد المراحل) ثم إلى NAD في السلسلة التنفسية. إن نواقل الإلكترونات الآتية من نازعات هيدروجين أخرى مثل تلك النوعية لكل من $L_{(+)}$-3- هيدروكسي أسيل CoA، و D (-) - 3 - هيدروكسي بوتيرات والبرولين والجلوتامات والمالات ونازعة هيدروجين إيزوسيترات تقترن كلها بشكل مباشر مع NAD في السلسلة التنفسية.

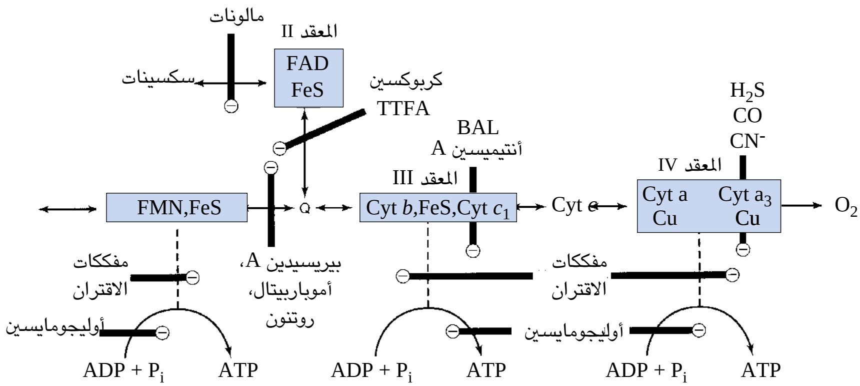
يؤكسد الـ NADH المرجع في السلسلة التنفسية تباعاً بوساطة إنزيم فلاڤوبروتيني معدني هو نازعة هيدروجين الـ NADH، الذي يحوي كل من FMN ومركز حديد كبريت Fe S وهو يكون مرتبطاً بقوة مع السلسلة التنفسية، ويقوم بتمرير المكافئات المرجعة إلى Q. كما يعمل Q أيضاً كنقطة تجميع في السلسلة التنفسية، فهو يجمع المكافئات المرجعة المشتقة من الركائز الأخرى التي ترتبط مباشرة بالسلسلة التنفسية من خلال نازعات الهيدروجين الفلاڤوبروتينية ومن هذه الركائز السكسينات والكولين وجليسرول –3– فسفات والساركوزين وثنائي ميثيل الجليسين وأسيل _CoA (الشكل 14-4). حيث يكون الجزء الفلاڤيني في كل نازعات الهيدروجين هذه هو الـ FAD.



الشكل 14-6 : معقد بروتين ـ حديد ـ كبريت (Fe_4S_4) كبريت مقلقل ـ حمضي؛ Pr = صميم البروتين؛ Cys = ثمالة السيستيين. تحوي بعض بروتينات حديد ـ كبريت ذرتين من الحديد وذرتين من الكبريت (Fe_2S_2).

تجري الإلكترونات من Q وتعبر سلسلة من السيتوكرومات المبينة في (الشكل 14-4)، لتصل إلى الأكسجين الجزيئي. حيث تكون هذه السيتوكرومات مرتبة بحسب ازدياد كمون الخزلدة. ويكون السيتوكروم النهائي aa_3 (أكسيداز السيتوكروم) مسؤولاً عن الاندماج النهائي للمكافئات المرجعة مع الأكسجين الجزيئي. ولقد لوحظ بأن هذه الجملة الإنزيمية (aa_3) تحتوي على النحاس الذي هو عنصر بنيوي في العديد من إنزيمات الأكسيداز، كما أنه يتمتع بألفة عالية جداً تجاه الأكسجين وهذا يسمح للسلسلة التنفسية بأن تقوم بوظيفتها بالمعدل الأعظمي وحتى نفاد الأكسجين من النسيج فعلياً. ولأن تفاعل تشكل الماء غير عكسي (هو التفاعل الوحيد غير العكوس في السلسلة) فهو يعطي اتجاهاً محدداً لجريان المكافئات المرجعة في السلسلة التنفسية ويكون باعثاً على إنتاج ATP وهي العملية التي يقترن بها تفاعل تشكل الماء في السلسلة التنفسية.

كان التنظيم البنيوي للسلسلة التنفسية هدفاً لدراسات مهمة. ومن أكثر الأمور أهمية كان تحديد التناسبات المولية الثابتة تقريباً بين المكونات في السلسلة. وتكون مكونات السلسلة التنفسية مرتبة بنيوياً ووظيفياً على شكل أربع معقدات بروتينية ـ شحمية في الغشاء المتقدري الداخلي. ويكون السيتوكروم C هو الوحيد الذواب من بين باقي السيتوكرومات، ويبدو أنه إلى جانب التميم الإنزيمي Q، المكون الأكثر تحركاً في السلسلة التنفسية حيث يصل بين المعقدات الأخرى الثابتة (الشكلان 14-7 و 14-10).



الشكل 14-7 : المقرات المفترضة لتثبيط (–) السلسلة التنفسية بأدوية وكيميائيات ومضادات حيوية معينة. وقد أشير إلى المقرات التي يبدو أنها تشكل نقاط إمداد للفسفتة. BAL: ديمركابرول. TTFA هو عامل استخلاب للحديد. المعقد I: NADH: الإنزيم المؤكسد المرجع لليوبيكينون؛ المعقد II: سكسينات: الإنزيم المؤكسد المرجع لليوبيكينون؛ المعقد III: يوبيكوينول: الإنزيم المؤكسد المرجع للفيري سيتوكروم C؛ المعقد IV: الفيري سيتوكروم C: الإنزيم المؤكسد المرجع للأكسجين. أما باقي الاختصارات فهي كما وردت في الشكل 14-4.

	الشروط التي تحدد سرعة التنفس
الحالة 1	توافر ADP والركيزة
الحالة 2	توافر الركيزة فقط
الحالة 3	سعة السلسلة التنفسية بحد ذاتها، عندما تتوافر كل الركائز والمكونات بكميات عند حد الإشباع
الحالة 4	توافر ADP فقط
الحالة 5	توافر الأكسجين فقط

الجدول 14-1: حالات تنظيم التنفس.

توفر السلسلة التنفسية معظم الطاقة المقتنصة في الأيض:

ثنائي فسفات الأدينوزين ADP، هو الجزيء الذي يقتنص الجزء الأكبر من الطاقة الحرة المتحررة عن عمليات التقويض ويحفظها على شكل فسفات عالية الطاقة. ويقوم الـ ATP الناتج بدوره بتمرير هذه الطاقة الحرة لتسيير تلك العمليات المتطلبة للطاقة لذلك أطلق على الـATP تعبير «العملة الطاقية» في الخلية (الشكل 12-7). يحدث خلال تفاعلات تحلل السكر (الجدول 19-1) اقتناص صاف ومباشر لزمرتين من الفسفات عالية الطاقة بما يعادل تقريباً 103,2 كيلو جول/ جزئي من الجلوكوز. (تم حساب ΔG لتفاعل تخليق الـ ATP من الـADP في الحي وهي تساوي تقريباً 51,6 كيلو جول /جزئي، مع الأخذ في الحسبان التركيز الفعلي للمتفاعلات الموجودة في الخلايا. وتلك القيمة أكبر من قيمة $DG^{\circ\prime}$ لتفاعل حلمهة الـ ATP المبينة في (الجدول 12-1)، والتي حددت عند تراكيز معيارية واحدة للمتفاعلات بلغت 1 جزئي /ل). ولأن جزئياً واحداً من الجلوكوز يعطي تقريباً 2870 كيلو جول عند الاحتراق الكامل، فإن الطاقة المقتنصة من تفاعل الفسفتة في سبيل تحلل السكر تكون قليلة. تتضمن تفاعلات دورة حمض السيتريك، التي هي

السبيل النهائي لأكسدة الجلوكوز بشكل كامل، عملية فسفتة واحدة هي عند تحويل سكسينيل -CoA إلى السكسينات، حيث تسمح بتشكيل زمرتين فقط من الفسفات عالية الطاقة لكل جزئي واحد من الجلوكوز. الجدير ذكره هنا أن جميع عمليات الفسفتة الموصوفة أعلاه تجري عند مستوى الركيزة.

وقد تبين عند دراسة المتقدرات المتنفسة السليمة، أنه عندما تتأكسد الركائز بوساطة كل من نازعة الهيدروجين المرتبطة بـ NAD والسلسلة التنفسية، تندمج ثلاث جزيئات تقريباً من الفسفات اللاعضوية بثلاث جزيئات من الـ ADP ليتشكل ثلاثة مولات من الـ ATP مقابل استهلاك نصف جزئي من الأكسجين؛ أي تكون النسبة P:0 مساوية لـ 3 (الشكل 7-14). ومن جانب آخر، عندما تتأكسد الركيزة عن طريق نازعة الهيدروجين المرتبطة بالفلاڤوبروتين، فإنه يتشكل 2 جزء فقط من الـ ATP وتساوي النسبة P:0 عندئذ 2. تعرف هذه التفاعلات بالفسفتة التأكسدية عند مستوى السلسلة التنفسية. إن تفاعلات نزع الهيدروجين في سبيل تقويض الجلوكوز بكل من تحلل السكر ودورة حمض السيتريك، إضافة لتفاعلات الفسفتة عند مستوى الركيزة، تكون مسؤولة عن 68٪ من الطاقة الحرة الناتجة عن احتراق الجلوكوز، والتي يتم اقتناصهاعلى شكل فسفات عالية الطاقة. ولقد ثبت فعلاً أن السلسلة التنفسية مسؤولة عن تشكيل جزء كبير من إجمالي الـ ATP.

يؤمن التزويد الثابت من الـATP بفضل التحكم في التنفس:

يتحكم معدل تنفس المتقدرات عن طريق تركيز الـ ADP. وذلك بسبب الاقتران القوي القائم بين عمليتي الفسفتة والأكسدة، أي أنه لا يمكن للأكسدة أن تستمر عبر السلسلة التنفسية دون أن تترافق مع فسفتة الـ ADP.

قام العالمان: تشانس (Chance) وويليامز (Williams) بتحديد خمسة شروط يمكن من خلالها التحكم في معدل التنفس في المتقدرات (الجدول 14-1). وبشكل عام تنطبق الحالة الرابعة على معظم الخلايا التي تكون في حالة الراحة، فيجري التحكم في التنفس بتوافر الـADP. وعند إنجاز عمل ما، يتحول الـ ATP إلى ADP ليسمح بجريان التنفس أكثر وأكثر، وهذا بدوره سيؤدي إلى سد النقص

الحاصل في مخزون الـ ATP (الشكل 14-8). وتبين أنه في بعض الظروف يمكن أن يؤثر تركيز الفسفات اللاعضوية أيضاً في معدل قيام السلسلة التنفسية بوظيفتها. وعندما يزداد معدل التنفس (كما في التمارين)، فإن الخلية تصل إلى الحالة 3 أو 5 وذلك إما عندما تشبع سعة السلسلة التنفسية أو إما عندما ينخفض PO_2 لأقل من قيمة K_m العائد للسيتوكروم a_3. وهناك احتمال أيضاً بأن يصبح ناقل ATP / ADP الذي يسهل دخول الـ ADP الموجود في العصارة الخلوية إلى داخل المتقدرة وبالمقابل يخرج الـ ATP منها، هو الذي يحدد معدل التنفس.

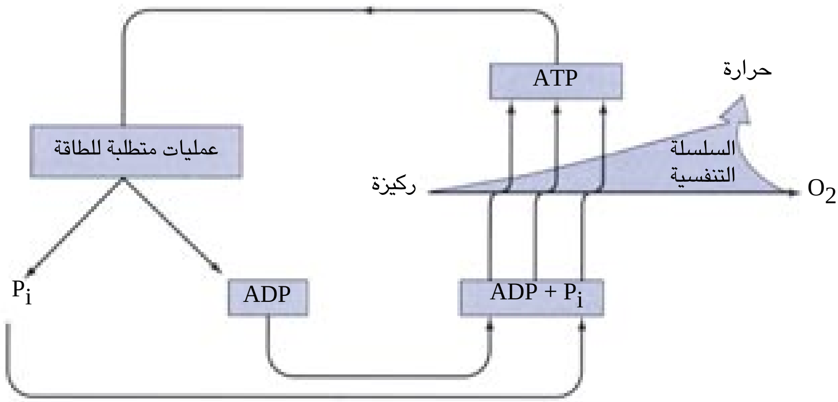
وبهذا الشكل، فإن الأسلوب الذي تسمح فيه عمليات الأكسدة الحيوية للطاقة الحرة الناتجة عن أكسدة المواد الغذائية لأن تصبح متاحة ومحفوظة بشكل روابط فسفاتية عالية الطاقة، هو أسلوب تدريجي (مؤلف من عدة مراحل)، وفعال (يقتنص 68 ٪ من الطاقة المتحررة تقريباً)، ومنظم، خلافاً للأسلوب الانفجاري وغير الفعال وغير المنظم الذي تحدث وفقه العديد من العمليات غير الحيوية. أما الطاقة الحرة المتبقية غير المقتنصة على شكل فسفات عالية الطاقة فهي تتحرر على شكل حرارة. ويجب ألاّ نتصور ذلك على أنه هدر للطاقة، لأن هذا الأمر يضمن أن تكون كامل الجملة التنفسية مطلقة للطاقة بشكل يكفي لأن تكون بعيدة عن التوازن مما يسمح بحدوث جريان متواصل وحيد الاتجاه (للإلكترونات والبروتونات) مع إنتاجية ثابتة لـATP. كما يستغل ذلك عند الحيوانات ذوات الدم الحار للمحافظة على حرارة الجسم.

العديد من السموم تثبط السلسلة التنفسية:

لقد تم الحصول على الكثير من المعلومات عن السلسلة التنفسية باستخدام المثبطات، التي خلافاً لما هو متوقع ساعدت في معرفة آلية تأثير الكثير من السموم. ويعرض (الشكل 14-7) المواقع المقترحة لتأثير هذه المثبطات، التي يمكن تقسيمها لتسهيل وصفها إلى مثبطات تامة للسلسلة التنفسية ومثبطات الفسفتة التأكسدية ومثبطات اقتران الفسفتة مع الأكسدة (مفككات الاقتران: Uncouplers).

تؤثر المثبطات، التي توقف التنفس بمحاصرتها للسلسلة التنفسية، في ثلاثة مواقع. فالموقع الأول يتثبط بالباربيتورات (Barbiturates) مثل أموباربيتال، وبالمضاد الحيوي البيريسيدين A (Piericidin A) وبالمبيد الحشري وسم الأسماك المعروف باسم الروتنون (Rotenone) حيث تمنع هذه المثبطات أكسدة الركائز المتصلة بالسلسلة التنفسية مباشرة عن طريق نازعة هيدروجين مرتبطة بـ NAD بأن تحاصر نقل الإلكترونات من Fe S (في نازعة هيدروجين NADH) إلى التميم الإنزيمي Q. وتكون هذه المثبطات مميتة عند تعرض الكائن الحي لها بجرعات تكفي لذلك.

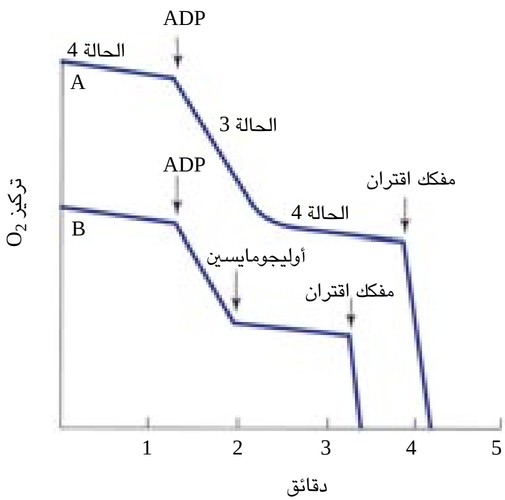
يثبط كل من الديمركابرول (Dimercaprol) والأنتيميسين A (Antimycin A) السلسلة التنفسية في الموقع بين السيتوكروم b والسيتوكروم C. أما السموم التقليدية مثل H_2S (سلفيد الهيدروجين)، و CO (أول أكسيد الكربون)، والسيانيد فهي تثبط أكسيدازالسيتوكروم (aa_3) وهي بذلك يمكنها توقيف التنفس بشكل تام. ويثبط كل من الكربوكسين (Carboxin) ومركب TTFA (عامل استخلاب الحديد) نوعياً انتقال المكافئات المرجعة من نازعة هيدروجين السكسينات إلى Q، في حين أن المالونات (Malonate) هي مثبط تنافسي لنازعة هيدروجين السكسينات.



الشكل 8-14 : دور الـ ADP في المراقبة التنفسية.

يحاصر المضاد الحيوي الأوليجومايسين (Oligomycin) وبشكل كامل عمليتي الأكسدة والفسفتة في المتقدرات السليمة وبوجود هذا المثبط مع ثنائي نتروفينول (Dinitrophenol) (مفكك الاقتران) فإن الأكسدة تتواصل دون حدوث فسفتة، وهذا يشير إلى أن الأوليجومايسين لا يؤثر مباشرة في السلسلة التنفسية بل يثبط فيما بعد إحدى مراحل الفسفتة (الشكل 14-9).

يثبط الأتراكتيلوزيد (Atractylozid) الفسفتية، التأكسدية المعتمدة على نقل نوكليوتيدات الأدينين عبر الغشاء المتقدري الداخلي، لذلك يعد أنه يثبط نقل الـADP إلى المتقدرة وخروج الـATP منها (الشكل 14-12).



الشكل 14-9 : لمراقبة التنفسية في المتقدرات. أظهرت التجربة A الحالة الأساسية للتنفس في الحالة 4 التي تتسارع عند إضافة الـ ADP. وعندما تتم فسفتة الـ ADP خارجي المنشأ إلى ATP، فإن التنفس يعود إلى الحالة 4. وبإضافة مفكك للاقتران، مثل ثنائي نترو الفينول، فإن هذا يحرر التنفس من الفسفتة. أما في التجربة B، فإضافة الأوليجومايسين يحاصر فسفتة الـ ADP المضاف وبالتالي التنفس أيضاً. وعند إضافة مفكك اقتران من جديد يتحرر التنفس من الفسفتة.

يتلخص تأثير مفككات الاقتران في فصل الأكسدة بالسلسلة التنفسية عن عملية الفسفتة، ويمكن لهذا التأثير أن يفسر التأثير السمي لهذه المركبات في الأحياء. حيث يؤدي ذلك إلى عدم انتظام التنفس، لعدم دوام التأثير المحدَّد لمعدل التنفس الذي يقوم به تركيز ADP أو Pi في ظروف التثبيط هذه. لقد استخدم مفكك الاقتران 2، 4 ـ ثنائي نتروفينول أكثر من غيره في الدراسات، لكن هناك مركبات أخرى تعمل بأسلوب مشابه، منها ثنائي نتروكريزول وخماسي الكلوروفينول و CCCP (m- كلوروكربونيل سيانيد فينيل هيدرازون) الذي يتمتع بفعالية تفوق بـ 100 مرة فعالية مركب ثنائي نتروفينول.

تفسر النظرية الكيميائية التناضحية آلية الفسفتة التأكسدية:

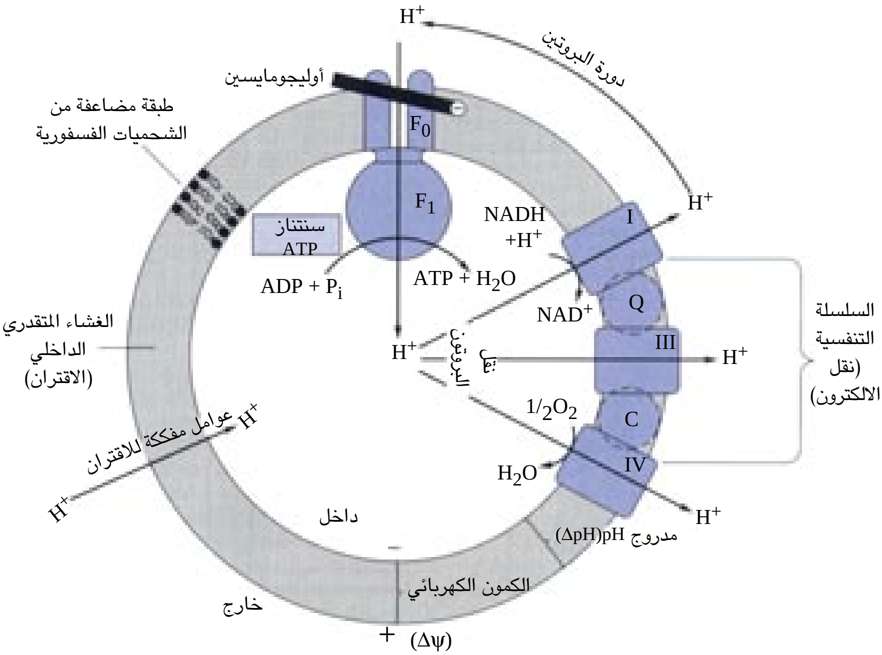
لقد وضعت فرضيتان أساسيتان هما الكيميائية والكيميائية التناضحية لتفسير اقتران الأكسدة مع الفسفتة. وتنص الفرضية الكيميائية على وجود اقتران كيميائي مباشر في كل مراحل العملية، كما هو الحال في التفاعلات التي تولد الـ ATP في سبيل تحلل السكر. إلا أنه لم يعزل حتى هذا اليوم أي مركب متوسط غني بالطاقة يربط بين الأكسدة والفسفتة، ولذلك فقدت هذه الفرضية مصداقيتها.

تعمل السلسلة التنفسية كمضخة للبروتونات

تفترض النظرية الكيميائية التناضحية، المعروفة كذلك باسم واضعها العالم ميتشل Mitchell، أن الطاقة الناتجة عن أكسدة مكونات السلسلة التنفسية تقترن مع انتقال (Translocation) أيونات الهيدروجين (البروتونات، H^+) من الجانب الداخلي للجانب الخارجي من الغشاء المتقدري الداخلي، مما يؤدي لتشكل فرق كمون كيميائي كهربائي ناجم عن التوزع اللامتناظر لأيونات الهيدروجين ويستخدم هذا الفرق لتشغيل الآلية المسؤولة عن تشكيل الـATP (الشكل 14-10).

تعمل معقدات السلسلة التنفسية I و III و IV (الشكل 14-7) كل منها كمضخة بروتونية. حيث يكون الغشاء الداخلي غير نفوذ للأيونات عموماً وبخاصة

للبروتونات، التي تتراكم خارج الغشاء الداخلي (بالفراغ بين الغشائين)، محدثة بذلك فرقاً بالكمون الكهربائي الكيميائي عبر الغشاء ($\Delta\mu H^+$)، ويتألف هذا الفرق من كمون كيميائي (الاختلاف بدرجة الباهاء pH) وكمون كهربائي.



الشكل 14-10 : أسس النظرية الكيميائية التناضحية للفسفتة التأكسدية. تحدث الدورة الرئيسة للبروتون بتقارن الأكسدة في السلسلة التنفسية مع إزفاء البروتون من داخل إلى خارج الغشاء، مندفعا خلال معقدات السلسلة التنفسية؟ و IIIوIV، التي يعمل كل منها كمضخة بروتونية. Q: يوبيكينون؛ C: الستيوكروم c، F_1، F_0 :الوحيدات البروتينية التي تستعمل الطاقة من المدروج البروتوني لتعزيز الفسفتة. تسمح العوامل المفككة للاقتران مثل ثنائي نتروالفينول بتسرب الـ H^+ خلال الغشاء، فينهار بذلك المدروج الكهربائي الكيميائي البروتوني. ويحاصر الأوليجومايسين بشكل نوعي توصيل الـ H^+ من خلال F_0. الشحميات الفسفورية.

يقوم سينثيتاز ATP الغشائي بتشكيل الـ ATP:

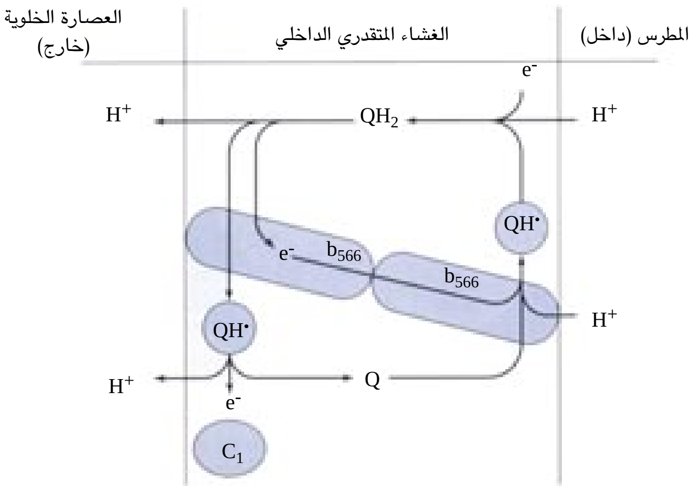
يستخدم فرق الكمون الكهربائي الكيميائي لتفعيل سينثيتاز الـ ATP المتوضع في الغشاء، الذي بتوافر Pi + ADP ، يشكل الـ ATP (الشكل 14-10). بذلك لا يوجد المركب المتوسط عالي الطاقة المشترك بكل من الأكسدة والفسفتة والذي على أساسه وضعت الفرضية الكيميائية.

توجد معقدات الفسفتة المسؤولة عن إنتاج ATP مبعثرة على سطح الغشاء المتقدري الداخلي. (الشكل 14-1). وهي تتألف من عدة وحيدات بروتينية تعرف إجمالاً بـF_1، وهي تكون بشكل نتوءات بداخل المطرس وتحوي إنزيمات سينثيتاز الـ ATP (الشكل 14-10) وتكون هذه الوحيدات متصلة، من المحتمل بوساطة سويقة، بالمعقد البروتيني الغشائي المسمى F_0، الذي يمتد على الأرجح على طول الغشاء وهو يتألف أيضاً من عدة وحيّدات بروتينية (الشكل 14-10). تمر البروتونات عبر المعقد F_0-F_1 مما يؤدي لتشكيل ATP بدءاً من ADP و pi. ومن المهم أن نذكر هنا أنه وجدت وحدات فسفتة مماثلة للموصوفة أعلاه داخل الغشاء البلازمي للجراثيم وخارج الغشاء الثيلاكويدي (Thylacoid) للصانعات الخضراء النباتية. وبالنظر إلى الفرضية التي تقول إنه خلال عملية التطور نشأت المتقدرات عن الجراثيم فإنه من المهم أن يكون المدروج (Gradient) البروتوني هو من داخل إلى خارج المتقدرات والجراثيم وبالاتجاه المعاكس في الصانعات الخضراء.

ما تزال آلية اقتران عملية انتقال البروتونات مع جملة سينثيتاز الـ ATP موضع تخمين. حيث اقترحت الدراسات أن تخليق الـ ATP الذي قد يحدث في فترة الارتباط مع الإنزيم، هي ليست الخطوة الرئيسة المتطلبة للطاقة، بل إن هذه الخطوة (المتطلبة للطاقة) هي تحرير الـ ATP من المقر الفعال. وقد ينطوي ذلك على حدوث تبدلات فراغية في الوحيدة F_1 بتأثير المدروج البروتوني.

على الرغم من أنه لم يعرف يقيناً بعد العدد الدقيق من البروتونات التي تضخ من كل معقد في السلسلة مقابل أكسدة كل جزيء من الـ NADH، إلا أن التقديرات الحديثة تقترح أن المعقد I يقوم بإزفاء أربعة بروتونات، أما المعقدات III و IV فهي تقوم بإزفاء ستة بروتونات فيما بينها. ويدخل أيضاً ثلاثة أو أربعة بروتونات إلى

داخل المتقدرة مقابل خروج كل جزيئة من الـ ATP (الشكل 14-13). وعلى هذا الشكل فإن النسبة P:0 قد لا تكون بالضرورة عدداً صحيحاً تماماً، أي 3، لكن من المحتمل 2.5. ولتبسيط الأمر فإننا سنواصل استخدام القيمة 3 مقابل أكسدة NADH + H+ والقيمة 2 مقابل أكسدة FADH2 في هذا النص. ويعرض (الشكل 14-11) الآلية المحتملة المسؤولة عن ضخ البروتونات بوساطة المعقد III التي هي دورة المركب Q.



الشكل 14-11 : دورة Q المحركة للبروتون. يبين هذا الشكل كيف تكون مكونات المعقد II منتظمة كمضخة بروتونية. يكون QH. مثبتاً على جانبي الغشاء بارتباطه بالبروتين الرابط لـ Q، في حين يكون كل من QH_2 و Q متحركين. وقد أُظهرت السيتوكرومات من b إلى c على الترتيب.

تدعم المعطيات التجريبية النظرية الكيميائية التناضحية:

1 – تؤدي إضافة البروتونات (على شكل حمض) إلى الوسط الخارجي المحيط بالمتقدرات السليمة إلى توليد ATP.

2 – لا تحدث الفسفتة التأكسدية في الجمل الذوابة بالماء حيث لا توجد إمكانية لتحقيق القوة الموجهة (المفعلة) لسينثيتاز الـATP.

3 – تحوي السلسلة التنفسية مكونات مرتبة بشكل جانبي (لا تناظر مستعرض) وهذا ما تتطلبه النظرية الكيميائية التناضحية.

بإمكان النظرية الكيميائية التناضحية أن تكون مسؤولة عن تنظيم التنفس:

ما إن يترسخ فرق الكمون الكهربائي الكيميائي على جانبي الغشاء المتقدري الداخلي، والذي ينتج عن انتقال البروتونات، فإنه يثبط استمرار نقل المكافئات المرجعة خلال السلسلة التنفسية ما لم يتم تفريغ هذه الشحنة عن طريق الإزفاء الراجع للبروتونات عبر الغشاء من خلال القوة الموجهة لسينتثيتاز الـATP. وهذا يعتمد بدوره على توافر ADP و Pi.

تفسر النظرية الكيميائية التناضحية آلية تأثير مفككات الاقتران:

تكون هذه المركبات (مثل ثنائي نترو الفينول) جزيئات أمفيباتية (متقابلة الزمر) (الفصل 16) وهي تؤدي لزيادة نفوذية الغشاء المتقدري الداخلي الشحماني تجاه البروتونات (الشكل 14-10) وبذلك ينخفض الكمون الكهربائي الكيميائي وتتعطل دورة عمل سينتثيتاز الـATP. وتستمر في هذه الحالة عملية الأكسدة دون حدوث الفسفتة.

تستلزم عدم النفوذية النسبية للغشاء المتقدري الداخلي وجود نواقل تبادلية:

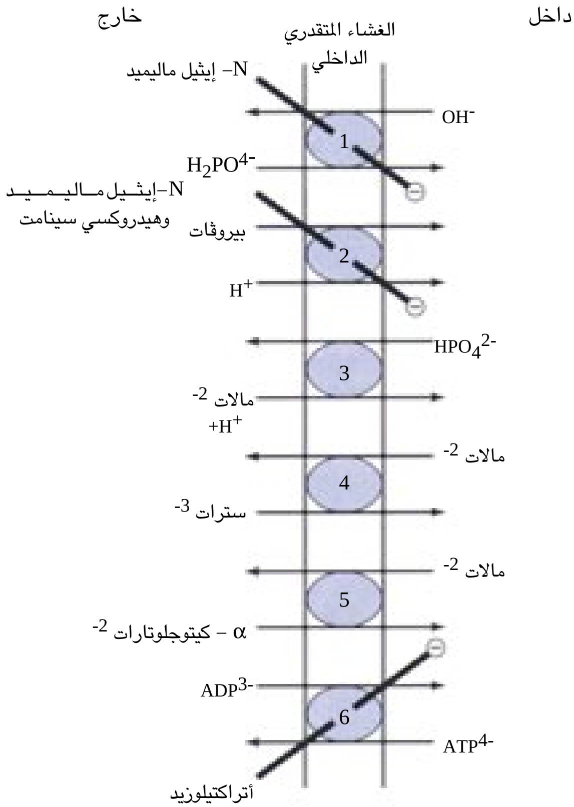
توجد جمل انتشار تبادلية في هذا الغشاء وهي تبادل الأيونات (الصواعد) بأيونات الهيدروكسيل (OH^-) والكاتيونات (الهوابط) بأيونات الهيدروجين (H^+) ومثل هذه الجمل ضروري لقبط ولإنتاج المستقلبات المتأنية طوال فترة المحافظة على التعادل الكهربائي والتناضحي.

يكون الغشاء المتقدري الداخلي ذو الطبقة الشحمية المضاعفة نفوذاً بحرية تجاه الجزيئات الصغيرة غير المشحونة مثل الأكسجين والماء و CO_2و NH_3، وكذلك للأحماض أحادية الكربوكسيل مثل 3 ـ هيدروكسي البوتيرات والأسيتوأسيتيك وحمض الأسيتيك (حمض الخل). وتنقل الأحماض الدهنية طويلة السلسلة لداخل المتقدرات بوساطة جملة الكارنيتين (الشكل 24-1)، ويوجد أيضاً ناقل خاص بالبيروڤات يتضمن آلية نقل مراحل (Symport) تستخدم مدروج H^+ من خارج إلى داخل المتقدرة اتجاه البيروڤات نفسها (الشكل 14-12). أما الأحماض الأمينية وأنيونات الأحماض ثنائية وثلاثية الكربوكسيل فهي تتطلب نواقل أو جمل حاملة نوعية لتسهيل نقلها عبر الغشاء. ويبدو أن لأحماض أحادية الكربوكسيل تنفذ عبر الغشاء بسهولة أكثر، لأنها ذات درجة تفارق (Dissociation) أقل من غيرها. ويعتقد أن الحمض الأكثر ذوباناً في الدهون وغير المتفارق هو الذي يكون من النوع الجزيئي القادر على النفوذ عبر الغشاء الشحماني.

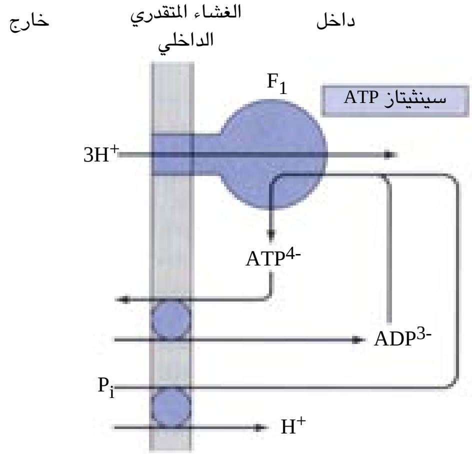
يرتبط انتقال الأنيونات ثنائية وثلاثية الكربوكسيل إلى حد بعيد بانتقال الفسفات اللاعضوية (HPO_4^{-2}) التي تنفذ بسرعة عبر الغشاء، مثلما يحدث لأيون H_2PO_4 التي تبادل مع OH^{--}. يحتاج القبط النهائي للمالات بوساطة ناقل ثنائيات الكربوكسيل إلى الفسفات اللاعضوية للمادلة في الاتجاه المعاكس. أما قبط كل من السيترات أو إيزوسيترات أو الأكونيتات المقرونة بوساطة ناقل الأحماض ثلاثية الكربوكسيل فيتطلب المالات للتبادل معها

أما نقل α – كيتوجلوتارات فيستلزم المالات أيضاً للمبادلة. وهكذا فإنه باستخدام آليات التبادل يتم المحافظة على التوازن التناضحي. ويجب أن ندرك بأن انتقال السيترات عبر الغشاء المتقدري لا يعتمد فقط على انتقال المالات بل على انتقال الفسفات اللاعضوية أيضاً. يسمح ناقل نوكليوتيد الأدينين بتبادل كل من ATP و ADP دون أن يسمح للـAMP. وهذه العملية هامة حيوياً كونها تسمح للـ ATP بالخروج من المتقدرات ليستعمل في مواقع بعيدة عن المتقدرات وأيضاً لأنها تسمح بعودة الـ ADP لإنتاج الـ ATP داخل المتقدرة (الشكل 14-13). ويمكن مبادلة أيون الصوديوم Na^+ بأيون H^+ بتأثير المدروج البروتوني. ويعتقد بأن القبط الفعال للكالسيوم Ca^{2+} من قبل المتقدرات يجري بانتقال صاف لأيون كالسيوم واحد

أحــادي الشــحنة (Ca^{+})، على الأرجح من خــلال آليــة التنادل (Antiport) للزوج (Ca^{2+}/H^{+}) التنادل هي آلية تبادل مركبين عبر الغشـاء باتجاهين متعاكسين بالوقت نفسه) ويسهل تحرر الكالسيوم من المتقدرات بمبادلته مع Na^{+}.



الشكل 12-14 : الجمل الناقلة في الغشاء المتقدري الداخلي. أو (1) ناقل الفسفات؛ (2) مراحل البيروفات؛ (3) ناقل ثنائيات الكربوكسيل؛ (4) ناقل ثلاثيات الكربوكسيل؛ (5) ناقل α– كيتو جلوتارات؛ (6) ناقل نوكليوتيد الأدينين. يقوم كل من N– إيتيل ماليميد وهيدروكسي سينامت وأتراكتيلوزيد بتثبيط (–) الجمل المشار إليها. وتوجد أيضاً (لكنها غير ظاهرة) جمل ناقلة لجلوتامات/ أسبارتات (الشكل 14-15)، وللجلوتامين والأورنيثين ولأحماض الأمينية المتعادلة والكارنيتين (الشكل 24-1).



الشكل 14-13: اشتراك ناقل الفسفات (1) مع ناقل نوكليوتيد الأدينين (2) في تخليق الـ ATP. تكون جملة مُرَاحل H^+/Pi مكافئة لجملة تنادل Pi/OH- المبينة في الشكل 14-12. تقبط ثلاثة أو من المحتمل أربعة بروتونات إلى داخل المتقدرة مقابل كل جزيء ATP يخرج. إلا أنه عندما يستخدم ATPداخل المتقدرة فيجري قبط أقل من ذلك ببروتون واحد.

تتيح حاملات الأيونات لهوابط نوعية بالنفاذ عبر الأغشية:

أطلق مصطلح حاملات الأيونات (Ionophores) على هذه المركبات بسبب قدرتها على تشكيل معقدات مع هوابط نوعية ثم تسهيل انتقالها خلال الأغشية الحيوية. ويتم ذلك بفضل خواص حاملات الأيونات الأليفة للشحم التي تؤهلها للنفاذ خلال الأغشية الشحمانية كما هو بالنسبة للغشاء المتقدري. ونأخذ على سبيل المثال المضاد الحيوي الڤالينوميسين (Valinomycin) الذي يسمح بنفاذ أيونات البوتاسيوم K^+ خلال الغشاء المتقدري مما يؤدي إلى تفريغ شحنة الكمون الغشائي على جانبي المتقدرة الداخلي والخارجي. وهناك مادة النيجريسين (Nigericin) التي تعمل كحامل لأيونات K^+ لكن بالتبادل مع H^+، وهي بذلك تبطل مدروج PH عبر الغشاء. وعند وجود كل من الڤالينوميسين والنيجريسين، فإن كل من الكمون الغشائي ومدروج PH يزولان، وبالتالي تتثبط تماماً عملية الفسفتة. علماً أن مفككات

الاقتران التقليدية مثل ثنائي نتروالفينول هي في الواقع حاملات لأيونات الهيدروجين (البروتونات).

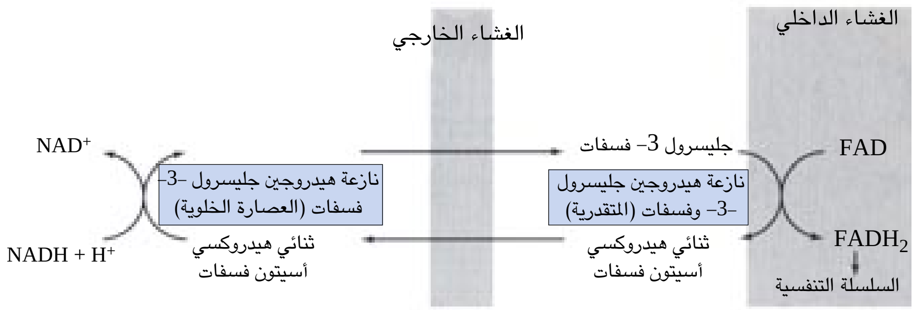
إن الإنزيم ناقل الهـيـدروجين الذي يقـوم بنقل البـروتونات هو مـصـدر لـ NADPH داخل المتقدرة:

هذا الإنزيم المرتبط بالطاقة، هو بروتين في الغشاء المتقدري الداخلي، يحقق الاقتران بين مرور البروتونات بعكس المدروج الكيميائي الكهربائي من خارج المتقدرة إلى داخلها مع انتقال H^+ من الـ NADH داخل المتقدري ليتم تشكيل الـ NADPH. ويبدو أنه يقوم بوظيفة دارئة للخزلدة مرتبطة بالطاقة وكذلك كمصدر للـ NADPH اللازم لعدة إنزيمات داخل المتقدرة مثل نازعة هيدروجين الجلوتامات والهيدروكسيلاز، التي تشترك في سبيل تخليق الستيرويدات.

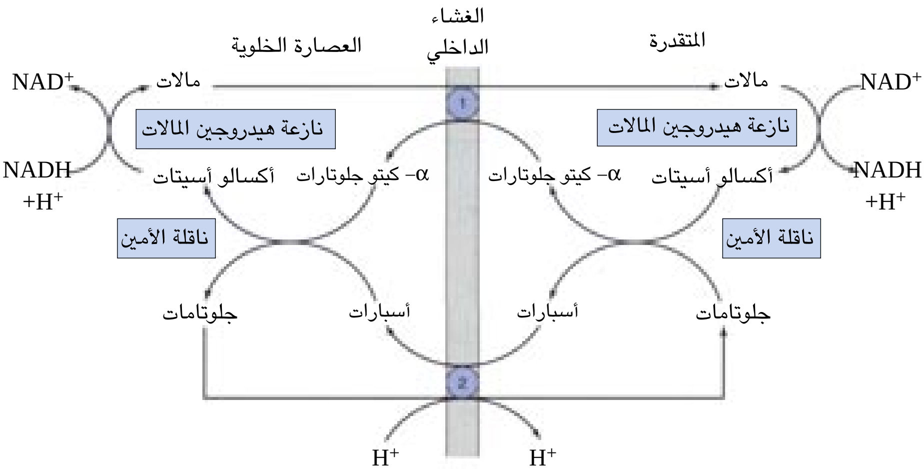
تجري أكسدة NADH خارج المتقدرة بتواسط مكوك الركيزة:

لا يستطيع NADH النفاذ عبر الغشاء المتقدري، لكنه يتولد باستمرار في العصارة الخلوية عند طريق نازعة هيدروجين 3 – فسفوجليسرالدهيد، وهو أحد إنزيمات سبيل تحلل السكر (الشكل 19-2). ومع ذلك، فإنه في الشروط الهوائية، لا يتراكم NADH خارج المتقدرات ـ ومن المسلم به أنه يؤكسد في السلسلة التنفسية داخل المتقدرات. ولقد افترضت عدة آليات محتملة تسمح بحدوث هذه العملية. وتتضمن هذه الآليات نقل المكافئات المرجعة عبر الغشاء المتقدري عن طريق أزواج من الركائزالمرتبطة بنازعات هيدروجين موافقة لها. لذلك من الضروري وجود نازعة هيدروجين نوعية على جانبي الغشاء المتقدري. ويوضح (الشكل 14-14) آلية النقل بتواسط مكوك جليسروفسفات (Glycerophosphate Shuttle) حيث نلاحظ أنه نظراً لأن الإنزيم المتقدري يكون مرتبطاً بالسلسلة التنفسية عن طريق الفلاڤوبروتين بدلاً من الـ NAD، فإنه يتشكل 2 جزئيات فقط عوضاً عن 3 جزئيات من الـ ATP مقابل استهلاك ذرة واحدة من الأكسجين. وفي بعض الأنواع تتناقص فعالية الإنزيم

المرتبط بـ FAD بعد استئصال الدرقية في حين تزداد بعد إعطاء الثيروكسين. ومع أن هذا المكوك موجود في عضلات الحشرات الطائرة والمخ والنسيج الدهنى الأسمر والعضلات البيضاء، وقد يكون له أهمية في الكبد، لكنه يغيب في أنسجة أخري (مثل العضلة القلبية) لافتقارها إنزيم نازعة هيدروجين جليسرول ـ 3 ـ فسفات المتقدري. لذلك يعتقد أن تكون جملة النقل المتضمنة المالات ونازعة هيدروجين المالات المقتدري وفي العصارة الخلوية هي الجملة الأكثر نفعاً والأكثر شمولية. ويبين (الشكل 14-15) جملة مكوك المالات حيث يعزى التعقيد في هذه الجملة إلى عدم نفوذية الغشاء المتقدري تجاه الأكسالوأسيتات الذي يجب أن يتفاعل مع الجلوتامات بنقل الأمين فيتحولا إلى أسبارتات و α- كيتوجلوتارات، وذلك قبل الانتقال عبر الغشاء المتقدري، ثم يعاد تشكيل الأكسالوأستيات في العصارة الخلوية.



الشكل 14-14 : مكوك الجليسرول فسفات لنقل المكافئات المرجعة من العصارة الخلوية إلى المتقدرة



الشكل 14-15 : مكوك المالات لنقل المكافئات المرجعة من العصارة الخلوية إلى المتقدرة.
1– ناقل كيتون جلوتارات؛ 2 – ناقل جلوتامات ـ أسبارتات (لاحظ مراحلة البروتون مع الجلوتامات)

إن النقل الأيوني في المتقدرات هو عملية مرتبطة بالطاقة:

تقوم المتقدرات التي تتنفس بشكل ناشط وتنجز الفسفتة التأكسدية، بالمحافظة على أو بتجميع الهوابط مثل +K و +Na و +Ca2 و +Mg2 وكذلك Pi. ويؤدي فك الاقتران باستخدام ثنائي نترو الفينول إلى ضياع الأيونات من المتقدرات، لكن لا يتثبط قبط الأيونات باستخدام الأوليجوميسين، وهذا يدعو للافتراض بأن الطاقة المطلوبة لا تؤمن عن طريق فسفتة الـADP. وبالإمكان التصور أن مضخة بروتونية أساسية تقوم بتبادل الأنيونات.

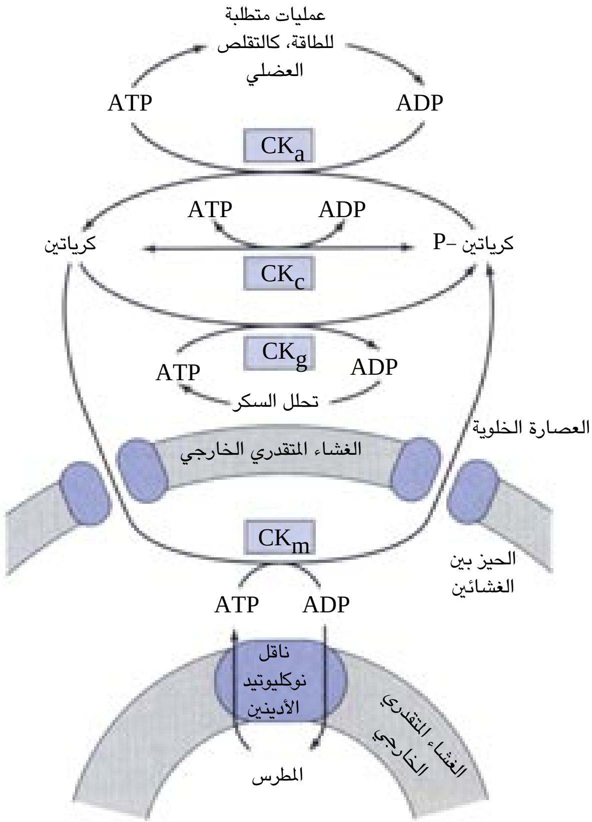
يسهل مكوك فسفات الكرياتين نقل الفسفات عالية الطاقة من المتقدرات:

يعزز هذا المكوك (الشكل 14-16) وظيفة فسفات الكرياتين كدارئة للطاقة، من خلال عمله كجملة دينمية تنقل الفسفات عالية الطاقة من المتقدرات وذلك في النسج النشيطة مثل القلب والعضلات الهيكلية. ويوجد في الفراغ الواقع بين غشائي المتقدرة إنزيم نظير إنزيمي (Isoenzyme) لكينازالكرياتين (CKm) وهو يحفز نقل الفسفات عالية الطاقة من الـ ATP الآتي من ناقل نوكليوتيد الأدينين إلى الكرياتين. وتُنقل بعد ذلك فسفات الكرياتين إلى العصارة الخلوية عبر مسام بروتينية موجودة في الغشاء المتقدري الخارجي لتصبح هناك متاحة لتوليد الـ ATP خارج المتقدري. وتوجد نظائر إنزيمية مختلفة كيناز الكرياتين وهي تتواسط نقل زمر الفسفات عالية الطاقة من وإلى جُمل مختلفة تنتفع منها أو تولدها، مثل عملية التقلص العضلي وسبيل تحلل السكر (الشكل 14-16).

المظاهر السريرية:

تتضمن الحالة التي تعرف بالاعتلال العضلي المتقدري الطفلي المميت (Fatal infantile mitochondrial myopathy) والحالة المسماة الخلل الكلوي الوظيفي (Renal dysfunction) تضاؤلاً شديداً أو غياباً لمعظم الإنزيمات المؤكسِدة المرجعة في السلسلة التنفسية. أما الحالة المختصرة بالأحرف MELAS (المتضمنة حسب الأحرف بما يوافقها باللغة الأجنبية سكتة وحماضاً لبنياً واعتلالاً عضلياً دماغياً متقدرياً) فهي وراثية ناجمة عن عوز الإنزيم المؤكسد المرجع (للمعقد I) أي NADH: يوبيكوينون أو عن عوز أكسيداز السيتوكروم. وهي أحد الأمثلة عن الأمراض المتعددة التي تسببها الطفرات في الـ DNA المتقدري (انظر الجدول 64-5) والتي قد تكون مكتنفة أيضاً في داء ألزهايمر وداء السكري.

وهناك عدد من الأدوية والسموم التي تثبط الفسفتة التأكسدية (انظر أعلاه).



الشكل 16-14 : مكوك الكرياتين فسفات في القلب والعضلات الهيكلية. يسمح هذا المكوك بنقل سريع للفسفات عالية الطاقة من المطرس المتقدري إلى العصارة الخلوية. (Cka : كيناز الكرياتين المتعلق بالاحتياجات الكبيرة من الـ ATP، مثل التقلص العضلي؛ Ckc: كيناز الكرياتين للمحافظة على التوازن بين الكرياتين والكرياتين فسفات من جهة و ATP/ADP من جهة أخرى؛ CKg: كيناز الكرياتين الذي يقرن تحلل السكر بتخليق فسفات الكرياتين؛ Ckm: كيناز الكرياتين المتقدري الذي يتواسط إنتاج فسفات الكرياتين من الـ ATPالمتشكل عن الفسفتة التأكسدية؛ P: بروتين مسامي في الغشاء المتقدري الخارجي.

الخلاصة:

1– تكون كل الطاقة الفعلية المتحررة من أكسدة السكريات والدسم والبروتين موجودة في المتقدرات على شكل مكافئات مرجعة [مختزلة] (H^- أو e^-) وهي تدخل للسلسلة التنفسية وتمرر هناك باتجاه مدروج الخزلدة التابع للنواقل حتى تصل لتفاعلها النهائي مع الأكسجين لتشكيل الماء.

2 – تكون نواقل الخزلدة موزعة على معقدات السلسلة التنفسية في الغشاء المتقدري الداخلي. وهي تستخدم الطاقة المتحررة من مدرج الخزلدة لضخ البروتونات إلى خارج الغشاء، مما يؤدي لنشوء كمون كهربائي كيميائي عبر الغشاء.

3 – توجد معقدات إنزيم سينثيتاز الـATP بشكل نتوءات في الغشاء، هي تستخدم الطاقة الكامنة في المدروج البروتوني لتخليق الـATP من ADP و Pi. وبهذا (الشكل تقترن الأكسدة بإحكام مع الفسفتة لتلبي الاحتياجات الطاقية في الخلية.

4 – لأن الغشاء المتقدري الداخلي غير نفوذ تجاه البروتونات وغيرها من الأيونات، فإنه توجد نواقل خاصة تبادلية تعبر الغشاء وتسمح بمرور أيونات مثل OH^- و pi و ATP^{4-} و ADP^{3-} والمستقلبات، دون تفريغ شحنة المدروج الكهربائي الكيميائي عبر الغشاء.

5 – يوقف العديد من السموم المعروفة جيداً مثل السيانيد عملية التنفس عن طريق تثبيط السلسلة التنفسية.

*** References:**

Balaban RS: Regulation of oxidative phosphorylation in the mammalian cell. *Am J Physiol* 1990:258:C377.

Boyer PD: The unusual enzymology of ATP synthase. *Biochemistry* 1987;26:8503.

Harold FM: *The Vital Force: A Study of Bioenergetics.* Freeman. 1986.

Hatefi Y: The mitochondrial electron transport and oxidative phosphorylation system. *Annu Rev Biochem* 1985; 54:1015.

Hinkle PC et al: Mechanistic stoichiometry of mitochondrial oxidative phosphorylation. *Biochemistry* 1991;30: 3576.

Mitchell P: Keilin's respiratory chain concept and its chemiosmotic consequences. *Science* 1979;206: 1148.

Nicholls DG: *Bioenergetics: An Introduction to the Chemiosmotic Theory* . Academic Press, 1982.

Scholte HR. et al: Defects in oxidative phosphorylation Biochemical investigations in skeletal musclar expression of the lesion in other cells.

J Inher Metam 1987; 10, Suppl 1:81.

Souid AK, Penefsky HS: Mechanism of ATP synthesis by mitochondrial ATP synthase from beef heart. *J Bioenerg Biomembr* 1994;26:627.

Tyler DD: *The Mitochondrion in Health and Disease.* VCH Publishers, 1992.

Wallace DC: Mitochondrial DNA in aging and diseas. *Sci Am* 1997;277 (2):22.

Wallimann T et al: Intracellular compartmentation,structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands.*Biochem* J 1992;281:21.

الفصل الخامس عشر

السكريات ذات الأهمية الفيزيولوجية

Carbohydrates of Physiologic Significance

مقدمة:

إن السكريات (الكربوهيدرات) مركبات واسعة الانتشار في النباتات والحيوانات، حيث تنجز أدواراً أيضية وبنيوية. ويجري تخليق الجلوكوز في النباتات بدءاً من ثاني أكسيد الكربون والماء بعملية التركيب الضوئي ويُدَخر على شكل نشا أو يتحول إلى السليولوز الذي يشكل هيكل الخلية النباتية. وتستطيع الحيوانات بدورها تخليق بعض السكريات بدءاً من الدهن والبروتين، لكن معظم السكريات عند الحيوانات تكون مشتقة بشكل أساسي من النباتات.

الأهمية الطبية البيولوجية:

إن معرفة خواص وبنية السكريات المهمة فيزيولوجياً أمر ضروري لفهم أدوارها في العمليات الحيوية عند الثدييات. ويعد سكر الجلوكوز أكثر السكريات أهمية، حيث أن معظم السكريات فى الغذاء تمتص إلى مجرى الدم على شكل جلوكوز، أو تتحول إليه في الكبد، كما تتشكل بدءاً من الجلوكوز جميع السكريات الأخرى في الجسم. إضافة إلى ذلك فالجلوكوز هو الوقود الرئيس في أنسجة الثدييات (فيما عدا المجترات)، وهو الوقود الوحيد عند الجنين. وهو يتحول إلى سكريات أخرى ذات وظائف نوعية مهمة مثل الجليكوجين (Glycogen) كشكل ادخاري، والريبوز

(Ribose) في الأحماض النووية، والجالاكتوز (Galactose) في سكر اللاكتوز بالحليب، وفي بعض الشحميات المعقدة، وكزمر مرتبطة في البروتينات السكرية والجليكانات البروتينية (Proteoglycans). ومن الأمراض المرتبطة بالسكريات داء السكري والجالاكتوزمية (Galactosemia) (وجود الجالاكتوز في الدم) وأمراض تخزين الجليكوجين ولا تحمل اللاكتوز (Lactose intolerance).

السكريات هي مشتقات ألدهيدية أو كيتونية لكحولات عديدة الهيدريد:

تصنف السكريات على الشكل التالي:

1- أحاديات السكريد (Monosaccharides) وهي تلك السكريات التي لا يمكن تحللها إلى سكريات أبسط، ويمكن تقسيمها بحسب عدد ذرات الكربون فيها إلى تريوزات (Trioses:ثلاثية) أو تتروزات (Tetroses: رباعية) أو بنتوزات (Pentoses: خماسية) أو هكسوزات (Hexoses: سداسية) أو هبتوزات (Heptoses: سباعية) أو أُكتوزات (Octoses: ثمانية)، كما تقسم إلى ألدوزات (aldoses) أو كيتوزات (Ketoses) بحسب وجود إما زمرة ألدهيدية و إما زمرة كيتونية على الترتيب. ويبين الجدول 15-1 أمثلة عنها.

2 – تعطي ثنائيات السكريد (Disaccharides)عند تحللها جزيئين من أحاديات السكريد، مثل المالتوز (Maltose)، الذي يعطي جزيئين من الجلوكوز، والسكروز (Sucrose) الذي يعطي جزيء جلوكوز وجزيء فركتوز.

3 – تعطي قليلات السكريد (Oligosaccharides) من اثنين إلى عشرة جزيئات من أحاديات السكريد عند التحلل، مثل المالتوتريوز*.

4 – أما عديدات السكريد (Polysaccharides) فتعطي عند تحللها أكثر من عشرة جزيئات من أحاديات السكريد، وكمثال على عديدات السكريد التي قد تكون

** لاحظ أن هذا المركب هو ليس تريوزاً حقيقياً، بل هو ثلاثي سكريد يحوي ثلاث ثمالات من α– جلوكوز.*

خطية أو متفرعة نذكر: النشويات والدكسترينات (Dextrins)، ويشار إليها أحياناً على أنها هكسوزات أو بنتوزات بحسب نوع أحاديات السكريد التي تعطيها عند تحللها.

	ألدوزات	كيتوزات
تريوزات ($C_3H_6O_3$)	جليسروز	ثنائي هيدركسي أسيتون
تتروزات ($C_4H_8O_4$)	إريثروز	اريثرولوز
بنتوزات ($C_4H_{10}O_5$)	ريبوز	ريبولوز
هكسوزات ($C_6H_{12}O_6$)	جلوكوز	فركتوز

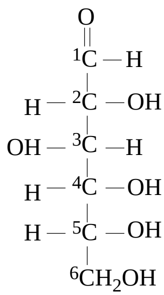
الجدول 15-1 : تصنيف بعض السكريات المهمة.

الجلوكوز هو أحادي السكريد الأكثر أهمية من الناحية الطبية الحيوية:

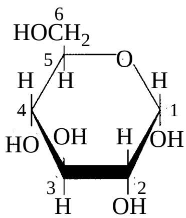
يمكن تمثيل بنية الجلوكوز بثلاثة أساليب:

يبين الشكل (15-1: A الألدوهكسوزات) الصيغة البنيوية ذات السلسلة المستقيمة للجلوكوز، والتي يمكن أن تفسر بعضاً من خواصه، أما البنية الحلقية فهي الأفضل بحسب معطيات الدينامية الحرارية، كما أنها تفسر ما تبقى من خواصه الكيميائية. ويمكن تمثيل الصيغة البنيوية لمعظم الأغراض على شكل حلقة بسيطة في رسم منظوري اقترحه العالم هورث Haworth (الشكل B:1-15)، حيث يكون الجزيء منظوراً هنا من جانب وأعلى مخطط الحلقة، وتكون الروابط الأقرب للناظر واضحة وثخينة. ولقد أظهرت تحاليل الانعراج باستخدام الأشعة السينية (X) أن الحلقة السداسية التي تحوي ذرة أكسجين واحدة تكون في الواقع على شكل الكرسي (الشكل C:1-15).

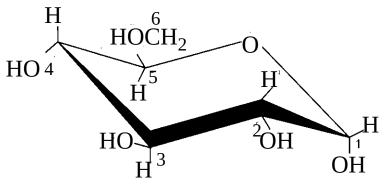
A



B



C



الشكل 15-1: D : جلوكوز A: شكل السلسلة المستقيمة B: -D- a جلوكوز؛ إسقاط هورث. C: -D- a جلوكوز؛ شكل الكرسي.

تبدي السكريات أشكالاً متنوعة من المصاوغة:

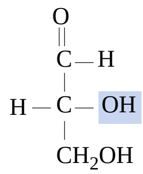
تعرف المركبات التي تملك ذات الصيغة البنيوية، لكنها تختلف بالهيئة الفراغية، بالمصاوغات الفراغية (Stereoisomers). حيث يسمح وجود ذرات كربون لا متناظرة (أي ذرات الكربون المرتبطة بأربع ذرات أو زمر مختلفة) بتشكيل هذه المصاوغات، ويكون عدد المصاوغات الممكنة لمركب ما متوقف على عدد ذرات الكربون اللامتناظرة فيه (n)، فسيكون مساوياً لـ 2^n فالجلوكوز، الذي فيه أربع ذرات كربون لا متناظرة، له 16 مصاوغاً، وفيما يلي أنماط المصاوغة الأكثر أهمية الموجودة للجلوكوز:

1 – المصاوغة D وL: تتحدد تسمية المصاوغ السكري بالشكل D أو لصورته L لخياله في المرآة بحسب علاقته الفراغية بالمركب الأم لعائلة السكريات، أي السكر ثلاثي الكربون وهو الجليسروز (الجليسر ألدهيد). ويعرض (الشكل 15-2) الأنماط L و D لهذا السكر إلى جانب المُصاوغات الموافقة للجلوكوز.

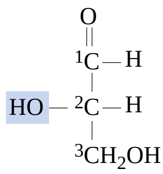
إن اتجاه الزمر -H و -HO حول ذرة الكربون المجاورة لذرة الكربون الكحولية الأولية الطرفية (مثل ذرة الكربون الخامسة في الجلوكوز) هو الذي يحدد انتماء السكر إلى المجموعة D أو إلى L. فعندما تكون زمرة -HO على هذا الكربون واقعة على اليمين (كما هو واضح في الشكل 15-2)، يكون السكر عضواً من المجموعة D، أما إذا كانت واقعة على اليسار فيكون عضواً في المجموعة L. وتكون أغلب أحاديات السكريدات الموجودة في الثدييات هي من الشكل D، وتكون الإنزيمات المسؤولة عن أيضها أيضاً نوعية لهذا الشكل.

كما إن وجود ذرات كربون لا متناظرة يمنح المركب أيضاً نشاطاً بصرياً (Optical activity) فعندما تمرر حزمة من ضوء ذي استقطاب مستو عبر محلول لمصاوغ بصري، فإنها تدور إما إلى اليمين (مُدَوِّرٌ لليمين) (Dextro-rotatory) (+) أو إما إلى اليسار، أي مدور لليسار (Levorotatory) (-) وقد يرمز للمركب بـ (-) D أو D (+) و L (-) أو L (+) . حيث يشير ذلك لعلاقته البنيوية بالجليسروز D أو L، ولكن ليس بالضرورة أن يبدي ذات التدوير الضوئي. فعلى سبيل المثال، يكون الشكل الموجود طبيعياً للفركتوز هو المصاوغ D (-).

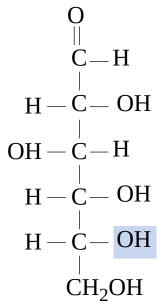
وعندما توجد كميات متساوية من المصاوغين D و L، فإنه لا يكون للمزيج الناتج أي نشاط بصري، لأن فعاليات كل مصاوغ تلغيها فعاليات المصاوغ الآخر. ويقال عن مثل هذا المزيج بأنه مزيج راسيمي (Racemic) أو المزيج DL. وتكون المركبات المنتجة صنعياً هي بالضرورة مركبات راسيمية لأنه تتساوى في هذه الحالة فرص تشكيل كل مصاوغ بصري. ولأن الإنزيمات تقوم بوظيفتها بأسلوب ثلاثي الأبعاد، فهي تستطيع التمييز بين المصاوغات -D و -L وتكون غالباً نوعية لشكل خاص، مثل نازعة هيدروجين L– جلوتامات.



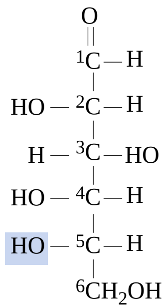
D – جليسروز (D– جليسرألدهيد)



L – جليسروز (L– جليسرألدهيد)



D– جلوكوز



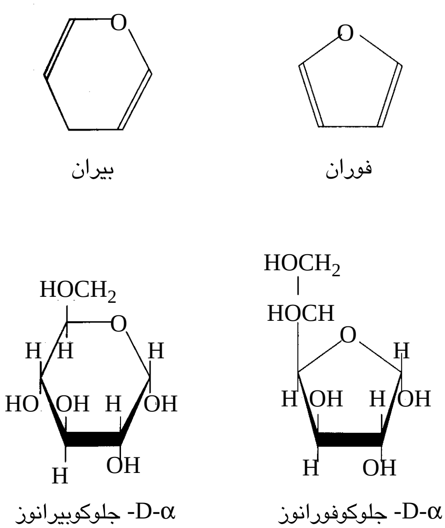
L – جلوكوز

الشكل 15-2: المصاوغة D و L للجليسروز والجلوكوز.

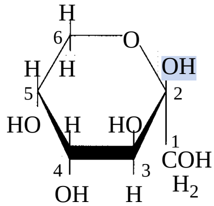
2 – البنى الحلقية «البيرانوز» (Pyranose) و«الفيورانوز» (Furanose): اعتمدت هذه التسمية على حقيقة مفادها أن البنى الحلقية الثابتة لأحاديات السكريدات تكون مماثلة للبنى الحلقية إما للبيران أو إما للفيوران (الشكل 15-3). ويمكن للكيتوزات أن تكون بشكل حلقي أيضاً، مثل D– فركتو فيورانوز أو D –فركتو بيرانوز (الشكل 15-4). وفي حالة الجلوكوز الموجود في المحلول، فإن أكثر من 99 ٪ منه يكون على شكل بيرانوز.

3 – الأنوميرات (Anomers) (المصاوغات الكربونيلية) ألفا وبيتا: إن البنية الحلقية للألدوز هي أسيتال نصفي (هيمي أسيتال Hemiacetal)، لأنها تتشكل باتحاد الدهيد مع زمرة كحولية (الشكل 15-5). وبشكل مماثل، فإن البنية الحلقية للكيتوز هي كيتال نصفي (هيمي كيتال: Hemiketal) (الشكل 15-4). أما الجلوكوز

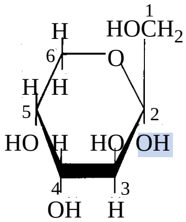
البللوري فهو α-D- جلوكوبيرانوز (الشكل 15-15). وتبقى البنية الحلقية على حالها في المحلول، لكن تحدث المصاوغة حول الموقع 1، أي عند زمرة الكربونيل أو ذرة الكربون الأنوميرية (Anomeric)، ويصبح المزيج مؤلفاً من α –جلوكوبيرانوز (38٪) و β – جلوكوبيرانوز (62٪). كما يكون فيه أقل من 0.3 ٪ من الأنوميرات ألفا وبيتا جلوكوهورانوز. ويترافق هذا التوازن مع دوران بصري (التدوير المتبدل Mutarotation) وذلك عندما تنفتح حلقة الأسيتال النصفي ثم يعاد تشكلها مع حدوث تبدل في موضع الزمر (-H) و (-HO) على الكربون رقم 1. حيث يحدث هذا التبدل على الأرجح بوساطة الجزيء اللاحلقي ذو السلسلة المستقيمة المميهة، مع أن تخطيط الاستقطاب قد أشار إلى أن الجلوكوز يوجد بالشكل اللاحلقي بنسبة لا تتعدى 0.0025 ٪ منه فقط. ويكون الدوران البصري للجلوكوز في المحلول من النمط المدور لليمين، لذلك غالباً ما يستخدم الاسم البديل له «الدكستروز» في التطبيقات السريرية.



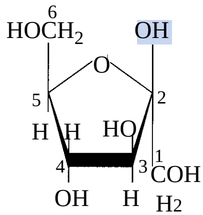
الشكل 15-3: أشكال البيرانوز والفورانوز للجلوكوز.

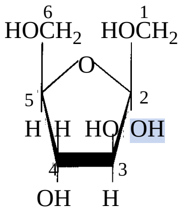


α-D- فركتو بيرانوز

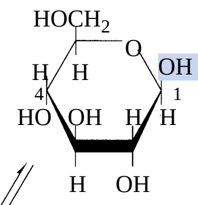


α-D- فركتو بيرانوز



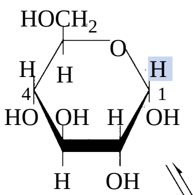


الشكل 15-4: أشكال البيرانوز والفورانوز للفركتوز.



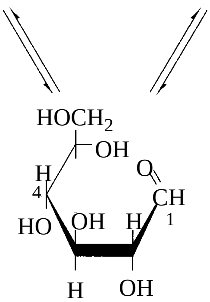
α-D- جلوكوبيرانوز

(β– أنومير)



α-D- جلوكوبيرانوز

(α– أنومير)



الشكل الألدهيدي
اللاحلقي

الشكل 15-5: للتدوير المتبدل للجلوكوز.

5 – الإبيميرات (Epimers) (المصاوغات الصنوية): وهي المصاوغات التي تختلف عن بعضها بسبب تبدل التوضع الفراغي للزمر (-H)و (-HO) على ذرات الكربون 2 و2 و3 في الجلوكوز. وأكثر إبيميرات الجلوكوز أهمية من الناحية الحيوية هي المانوز والجالاكتوز، اللذان يتشكلان بالمصاوغة الإبيميرية في ذرات الكربون رقم 2 و4 على الترتيب (الشكل 15-6).

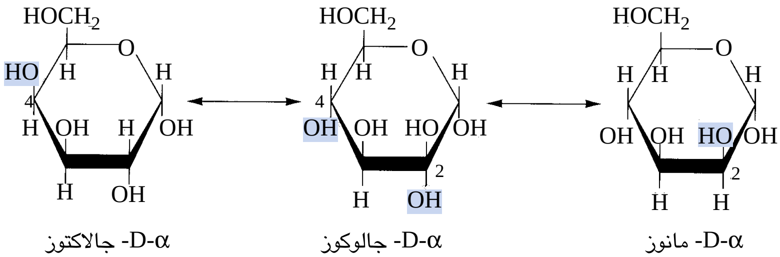
5 – المصاوغة ألدوز ـ كيتوز: إن للفركتوز ذات الصيغة الجزيئية التي للجلوكوز، لكنه يختلف عنه في الصيغة البنيوية، حيث يوجد زمرة كيتونية كامنة في الموقع 2، وهي ذرة الكربون الأنوميرية المميزة للفركتوز (الشكلان 15-4 و 15-7)، في حين توجد زمرة ألدهيدية كامنة في الموقع 1، وهي ذرة الكربون الأنوميرية المميزة للجلوكوز (الشكل 15-5).

العديدات من أحاديات السكريدات مركبات مهمة فيزيولوجياً:

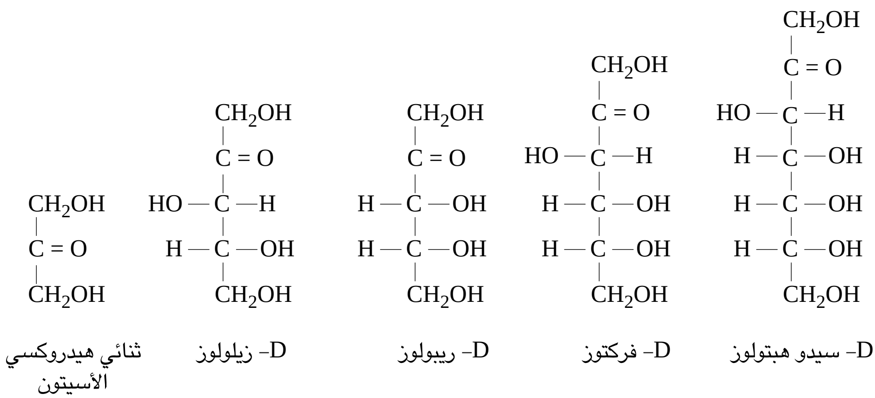
تتشكل مشتقات التريوز (السكريات ثلاثية الكربون) خلال عمليات التقويض الأيضي للجلوكوز في سبيل تحلل السكر. كما تتشكل مشتقات التريوزات والتترروزات (الرباعية) والبنتوزات (الخماسية) والسكر سباعي الكربون (سدوهبتولوز Sedoheptulose) في أثناء تحطيم الجلوكوز في سبيل فسفات البنتوز. وتعد السكاكر الخماسية (البنتوزات) مكونات مهمة في النوكليوتيدات وفي الأحماض النووية وفي الكثير من التمائم الإنزيمية (الجدول 15-2). ومن أكثر السكريات السداسية (الهكسوزات) أهمية من الناحية الفيزيولوجية: الجلوكوز والجالاكتوز والفركتوز والمانوز (الجدول 15-3).

يعرض (الشكل 15-8) بنى السكاكر الألدوزية ذات الأهمية الكيميائية الحيوية. ويبين (الشكل 15-7) خمسة سكاكر كيتوزية لها أهمية في الأيض. كما تحظى المشتقات الحمضية الكربوكسيلية للجلوكوز بأهمية خاصة مثل D– جلوكورونات (المهم في تشكيل الجلوكورونيد وهو يوجد في الجليكوز أمينو جليكانات) ومشتقاته

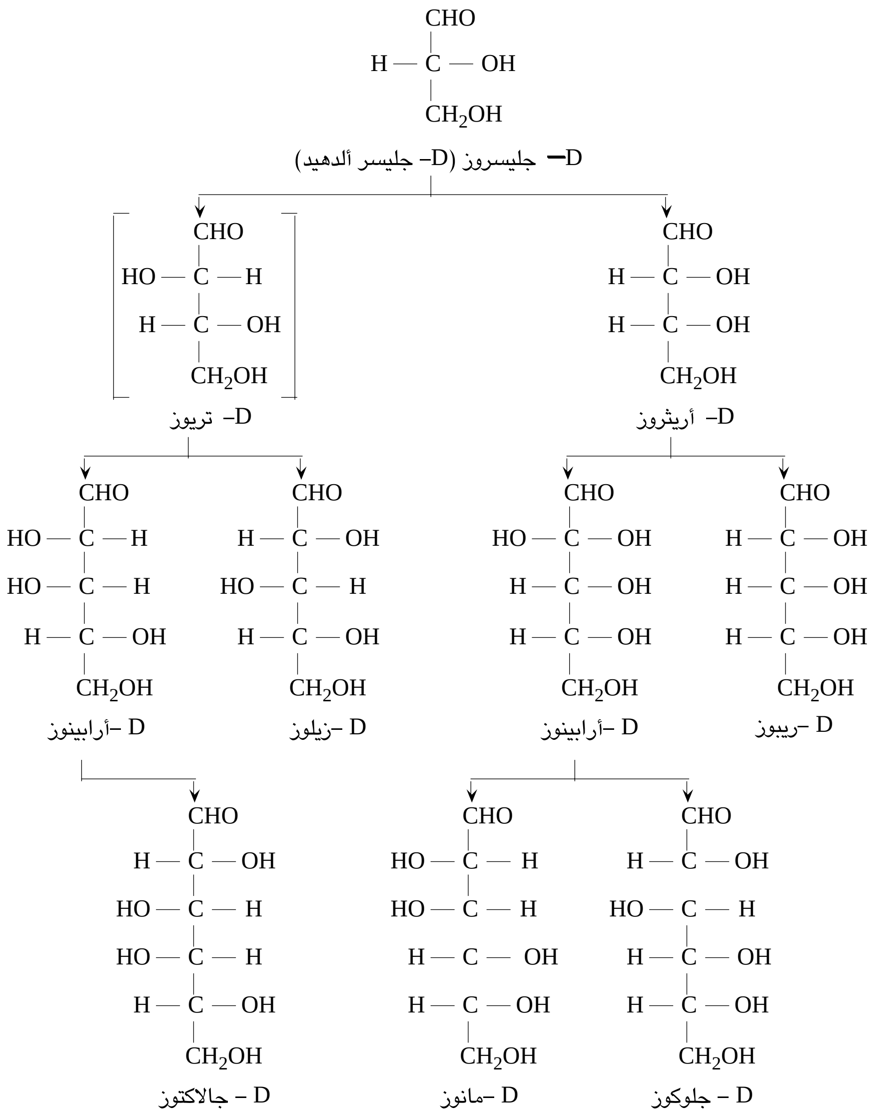
الأيضية مثل L– إيدورونات (L-iduronate) (الموجود في الجليكوز أمينوجليكانات (الشكل 15-9) وL – جولونات (L-gulonate) (وهي عنصر في سبيل الحمض اليوروني. انظر الشكل 22-4).



الشكل 15-6: التصاوغ الصنوي (الإبيميري) للجلوكوز



الشكل 15-7: أمثلة عن الكيتونات ذات الأهمية الفيزيولوجية.

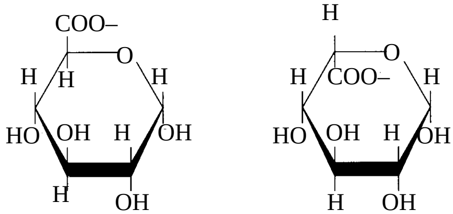


الشكل 8-15: العلاقات البنيوية للألدوزات، السلسلة D، ذات الأهمية الفيزيولوجية. لا يحظى D– تريوز بأهمية فيزيولوجية. تتشكل السلسلة نظرياً بإضافة وحدة CH_2O إلى الزمرة CHO– في السكر.

تشكل السكاكر الجليوكوزيدات مع مركبات أخرى ومع بعضها بعضاً

الجليكوزيدات (Glycosides) هي مركبات تتشكل نتيجة تكاثف زمرة الهدركسيل التابعة للكربون الأنوميري في أحادي السكريد أو في ثمالة أحادي السكريد، مع مركب ثان، الذي قد يكون، أو لا يكون كما في حالة الأجليكون (Aglycone)؛ (الجزء اللاسكري)، أحادي سكريد آخر. فإذا كانت الزمرة الثانية هيدركسيلاً، فإن الرابطة O– الجليكوزيدية هي من نوع «أسيتال» لأنها تنجم عن تفاعل بين زمرة الأسيتال النصفي (المتشكل من ألدهيد وزمرة -HO مع زمرة -HO أخرى). أما إذا كان قسم الأسيتال النصفي جلوكوزاً، فالمركب الناتج هو جليكوزيد؛ وإذا كان جالاكتوزاً فالمركب هو الجالاكتوزيد، وهكذا دواليك. من جانب آخر، إذا كانت الزمرة الثانية أميناً، فإنه تتشكل رابطة N– جليكوزيدية، كما هو الحال بين الأدينين والريبوز في النوكليوتيدات مثل الـ ATP (الشكل 12-5).

توجد الجليكوزيدات في العديد من الأدوية والتوابل، وفي مكونات الأنسجة الحيوانية. قد يكون الأجليكون هو الميثانول أو الجليسرول أو ستيرولاً أو فينولاً أو أساساً مثل الأدينين. وتحوي كافة الجليكوزيدات المهمة طبياً بسبب تأثيرها على القلب (الجليكوزيدات القلبية Cardiac glycosides)، على الستيرويدات كمكون أجليكوني فيها. وهي تشمل مشتقات الديجيتال (Digitalis) (دواء مقو للقلب) والستروفنتوس (Strophanthus) (جنس من أشجار مدارية افريقية) مثل الأوابين (Ouabain) وهو مثبط لإنزيم ATP ase المعتمد على K^+ و Na^+ الموجود في الأغشية الخلوية. وتتضمن الجليكوزيدات الأخرى المضادات الحيوية مثل الستربتوميسين (Streptomycin) (الشكل 15-10).



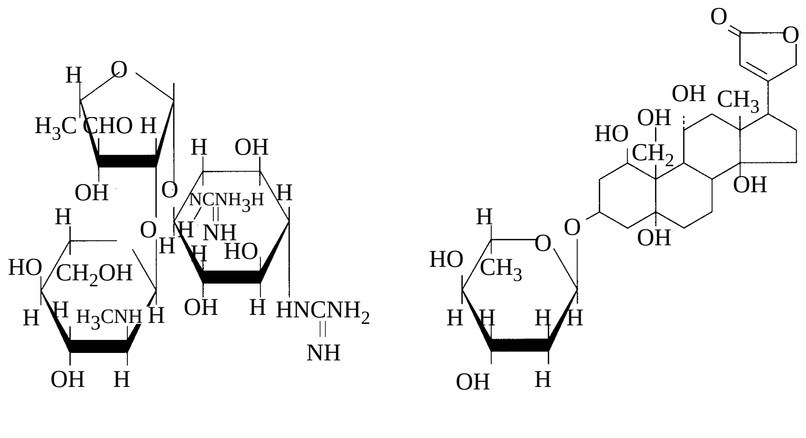
الشكل 15-9: α–D– جلوكورونات (لليسار) وβ-L– أيدورونات (لليمين).

السكر	مكان وجوده	الأهمية الكيميائية الحيوية	الأهمية السريرية
D- ريبوز	الأحماض النووية	عناصر بنيوية في الأحماض النووية والتمائم الإنزيمية مثل ATP و AND و NADP والفلاڤوبروتينات فسفات الريبوز هي متوسطات في سبيل فسفات البنتوز	
D – ريبولوز	يتشكل في العمليات الاستقلابية	فسفات الريبولوز هو متوسط في سبيل فسفات البنتوز	
D – أرابينوز	الصمغ العربي، وفي صموغ الكرز والبرقوق (الخوخ)	مكون من البروتينات السكرية	
D- زَيْلُوز	صموغ الخشب، والجليكانات البروتينية وجليكوز أمينوجليكانات	مكون من البروتينات السكرية	
D- ليكسوز	عضلة القلب	مكون من الليكسوفلاڤين المعزول من عضلة القلب عند الإنسان	
L- زَيْلُولوز		متوسط في سبيل الحمض اليوروني	يوجد في البول في بيلة النتوز الأساسية

الجدول 2-15: البنتوزات ذات الأهمية الفيزيولوجية.

السكر	المصدر	الأهمية	الأهمية السريرية
D –جلوكوز	عصير الفواكه. حلمهة النشاء وسكر القصب، والمالتوز واللاكتوز	هو «سكر» الجسم. وهو الذي يحمل بالدم، والأساسي الذي تستخدمه النسج في الجسم	يوجد في بول المرضى بداء السكري (بيلة سكرية) بسبب ارتفاع جلوكوز الدم(فرط سكر الدم)
D– فركتوز	عصير الفواكه. العسل. حلمهة سكر القصب والإينولين من (خرشوف أو الأرضي شوكي المنسوب للقدس)	يمكن أن يتحول إلى الجلوكوز في الكبد وبهذا يتم استخدامه في الجسم	يؤدي لاتحمل الفركتوز الوراثي إلى تراكم الفركتوز ونقص سكر الدم.
D – جالاكتوز	حلمهة اللاكتوز	يمكن أن يتحول إلى الجلوكوز في الكبد ويستقلب. ويتم تخليقه في غدة الثديّ من أجل صنع لاكتوز الحليب. وهو مكونٌ في الشحميات السكرية والبروتينات السكرية.	يؤدي القصور في استقلابه إلى الجالاكتوزمية والسَّادْ.
D– مانوز	حلمهة المانان (Mannans) النباتي والصموغ	مكون في الكثير من البروتينات السكرية	

الجدول 3-15: الهكسوزات ذات الأهمية الفيزيولوجية.



الشكل 15-10: الستربتوميسين (لليسار) والأوابين (لليمين).

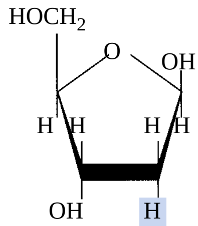
ينقص من السكاكر منقوصة الأكسجين ذرة أكسجين واحدة:

إن السكاكر منقوصة الأكسجين هي تلك السكاكر التي استبدلت فيها زمرة هيدروكسيل مرتبطة بالبنية الحلقية بذرة هيدروجين. ونذكر من الأمثلة: ديوكسي ريبوز (ريبوز منقوص الأكسجين Deoxyribose) (الشكل 15-11) الذي يوجد في الأحماض النووية (DNA) .كما وجد في البروتينات السكرية سكر منزوع الأكسجين هو L– فوكوز (الشكل 15-17) وهناك 2– ديوكسي جلوكوز وهو على قدر من الأهمية كونه مثبط لأيض الجلوكوز.

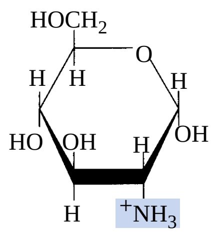
السكاكر الأمينية (الهكسوزأمينات) هي مكونات في البروتينات السكرية والجنجليوزيدات والجليكوز أمينو جليكانات:

نذكر كأمثلة على السكاكر الأمينية: D –جلوكوز أمين (الشكل 15-12) و D – جالاكتوز أمين، و D– مانوزامين، وكلها محدد وجودها في الطبيعة. فالجلوكوز أمين هو مكون في حمض الهيالوروني، والجالاكتوز أمين (كوندروز أمين) هو مكون في

الكندرويتين (الفصل 57). يحوي العديد من المضادات الحيوية (Antibiotics) (مثل الإريثروميسين) السكاكر الأمينية، التي يعتقد بأن لها علاقة بفعالية هذه الأدوية كمضادات حيوية.



الشكل 15-11: 2–ديوكسي–D – ريبوفورانوز (الشكل ؟).



الشكل 15-12: جلوكوز أمين (2–أمينو D-جلوكوبيرانوز) (الشكل ؟).
الجالاكتوز أمين هو 2– أمينو –D – جالاكتوبيرانوز. يوجد كل من جلوكوز أمين وجالاكتوز أمين كمشتقات N–أسيتيل في السكريات الأكثر تعقيداً، كالبروتينات السكرية.

المالتوز والسكروز واللاكتوز هي ثنائيات سكريد مهمة:

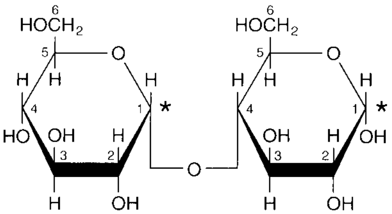
ثنائيات السكريد هي سكاكر مؤلفة من ثمالتين من أحاديات السكريد متحدتين مع بعضهما بوساطة رابطة جليكوزيدية (الشكل 15-13)، وتعكس تسميتها الكيميائية أحاديات السكريد المكونة لها. ومن ثنائيات السكريد المهمة فيزيولوجياً: المالتوز والسكروز واللاكتوز (الجدول 15-4). وتعطي حلمهة السكروز مزيجاً بسيطاً يسمى «السكر المنقلب» بسبب الفركتوز المدور لليسار على نحو شديد، وبالتالي فإن هذا الناتج يبدل (يقلب أو يعكس) التأثير المدور لليمين الذي كان يتمتع به السكروز.

السكر	المصدر	الأهمية السريرية
المالتوز	هضم النشا بالأميلاز أو بالحلمهة. الحبوب الناتشة والمالت (الشعير المنقوع)	
اللاكتوز	الحليب، قد يوجد في البول في أثناء فترة الحمل	يؤدي سوء الامتصاص، نتيجة عوز اللاكتاز إلى إسهال وتطبل البطن (Flatulence)
السكروز	سكر القصب والشمندر، السرجوم (نبات الذرة). الأنانس. جذور الجزر	يؤدي سوء الامتصاص نتيجة عوز السكراز إلى إسهال وانتفاخ البطن
التريهالوز[1]	الفطريات والخمائر. وهو السكر الرئيس في اللمف الدموي عند الحشرات.	

الجدول 15-4 : ثنائيات السكريد.

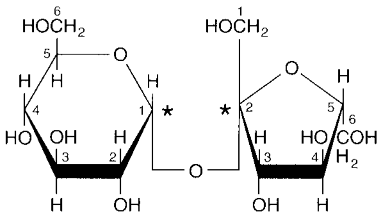
1– هو O-α-D–جلوكوبيرانوزيل –(1 ↔ 1) α-D جلوكوبيرانوزيد.

مالتوز



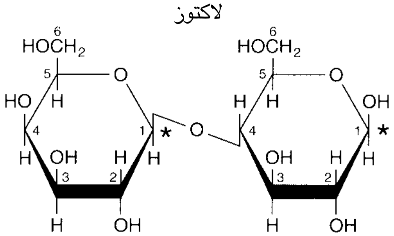
O-α-D- جلوكوبيرانوزيل – (1 4) جلوكو بيرانوز.

سكروز



O-α-D جلوكوبيرانوزيل – (1 4) α-D – فركتو مورانوزيد.

لاكتوز



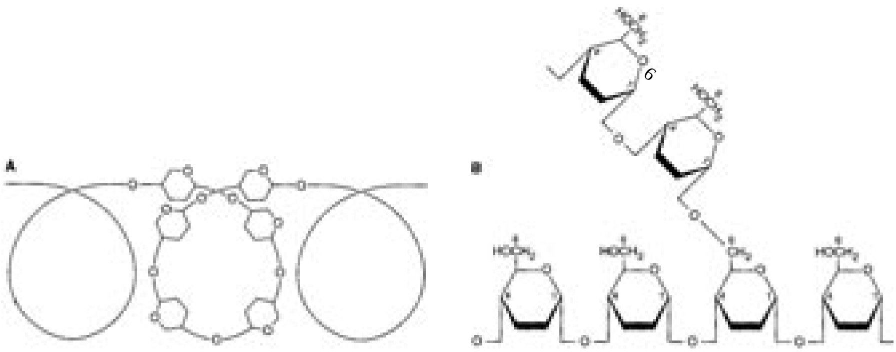
O-β-D جالاكتوبيرانوزيل– (1 4) β-D – جلوكوبيرانوز

الشكل 15-13: بنى ثنائيات السكريد المهمة. تعزى الأشكال α و β إلى الهيئة الفراغية عند ذرة الكربون الأنوميرية (الموسومة بنجمة). وعندما يشارك الكربون الأنوميري للثمالة الثانية في تشكيل الرابطة الجليكوزيدية، كما في السكروز، فإن الثمالة تصبح جليكوزيداً يعرف كفورانوزيد أو كبيرانوزيد. وحيث أنه لم يعد في ثنائيي السكريد كربوناً أنوميرياً مع زمرة ألدهيدية أو كيتونية كامنة، فإنه لا يبدي بعد ذلك خصائص إرجاعية. وتنجم الهيئة الفراغية لثمالة ـ فركتو فورانوز في السكروز عن دوران جزيء β– فركتو فورانوز المعروض في الشكل 15-4 بمقدار 180 درجة وتشكل انعكاس له.

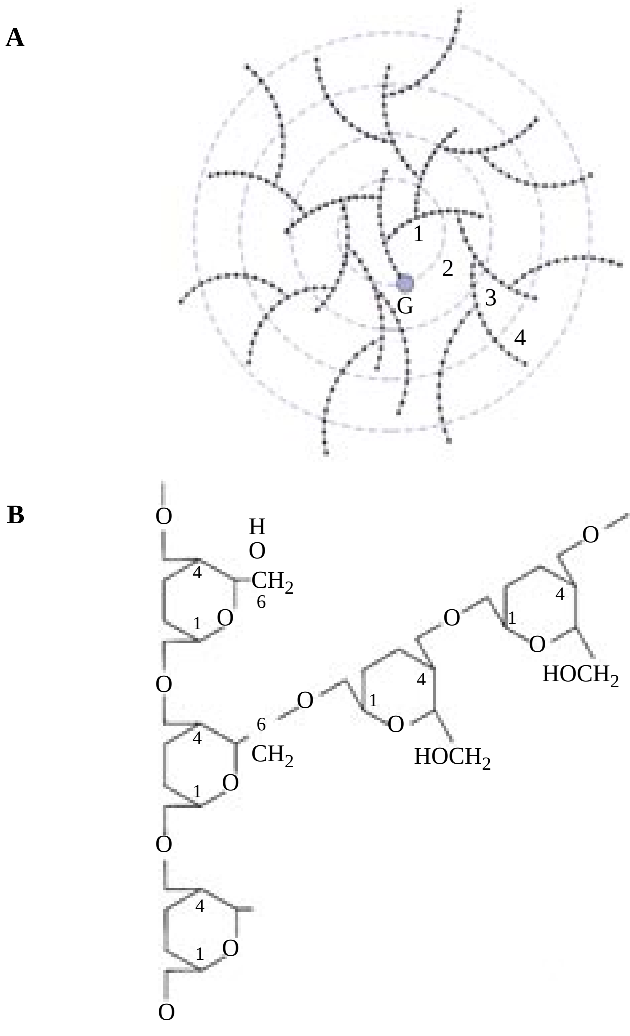
تقوم عديدات السكريد بوظائف بنيوية وادخارية

تشمل عديدات السكريد السكريات التالية ذات الأهمية الفيزيولوجية: النشا (Starch) الذي يتشكل من سلسلة α – جليكوزيدية. ويعطي مثل هذا المركب الجلوكوز فقط عند حلمهته، لذلك فهو مكثور متجانس (Homopolymer) ويسمى جلوكوزان (Gluconsan) أو جلوكان (Glucan). وهو من أهم المصادر الغذائية للسكريات، ويتوافر في الحبوب والبطاطا والبقول والخضار الأخرى. وهو يتكون بشكل أساسي من: الأميلوز (Amylose) (15-20٪) ذي البنية الحلزونية غير المتفرعة (الشكل 15-14)، والأميلوبكتين (Amylopectin) (80-85٪) وهو يتكون من سلاسل متفرعة تتألف من 24-30 ثمالة جلوكوز، مرتبطة مع بعضها بروابط 14 في السلاسل، وبروابط 16 في نقاط التفرع.

الجليكوجين (Glycogen) (الشكل 15-15) وهو من عديدات السكريدات الادخارية في جسم الحيوان. وغالباً ما تطلق عليه تسمية النشا الحيواني.



الشكل 15-14: بنية النشا. A: الأميلوز، يظهر البنية الحلزونية الملففة.
B: الأميلوبكتين، يظهر نقطة التفرع.



الشكل 15-15: جزيء الجليكوجين. A: البنية العامة. B: تضخم البنية عند نقطة التفرع. الجزيء هو كرة بقطر 21 نانومتر تقريباً يمكن أن يبدو للعيان من خلال صورة بالمجهر الإلكتروني. وله كتلة جزيئية تقدر بـ 107 دالتون ويتألف من سلاسل عديدة السكريد تحوي كل منها نحو 13 ثمالة جلوكوز. وإما أن تكون السلاسل متفرعة أو غير متفرعة وهي مرتبة في 12 طبقة متراكزة (متحدة المركز) (يظهر منها أربع فقط في الشكل). وتوجد السلاسل المتفرعة (بكل منها فرعان) في الطبقات الداخلية أما السلاسل غير المتفرعة ففي الطبقة الخارجية. (G= جليكوجينين وهو الجزيء المشرع (الذي يبدأ) لتخليق الجليكوجين).

وللجليكوجين بنية متشعبة أكثر من الأميلوبكتين ويحوي سلاسل مؤلفة من 12-14 ثمالة α – D– جلوكوبيرانوز (مرتبطة مع بعضها برابطة α [1←4] جليكوزيدية) مع تفرعات بوساطة الروابط α (1←6) جليكوزيدية. والإينولين (Inulin) النشا الموجود في درنات وجذور الأضاليا والخرشوف (الأرضي شوكي) والهندباء، وهو يعطي عند حلمهته الفركتوز، لذلك يسمى بالفركتوزان (Fructosan). وهذا النشا، خلافاً لنشا البطاطا، يذوب بسهولة في الماء الفاتر وقد استخدم في الاستقصاءات الفيزيولوجية من أجل تحديد معدل الترشيح الكبيبي. من جانب آخر، تتشكل الدكسترينات في أثناء تحطيم النشا بالحلمهة. وهناك الدكسترينات المحدودة وهي أولى النواتج المتشكلة بتأثير الحلمهة التي تطال درجة معينة من التفرعات.

السليولوز (Cellulose) هو المكون الرئيس لهيكل الخلية النباتية، وهو غير ذواب ويتألف من وحدات a –D – جلوكوبيرانوز مرتبطة مع بعضها بوساطة الروابط (1←4) بحيث تشكل سلاسلاً مستقيمة وطويلة تتقوى بوساطة روابط هيدروجينية تصالبية. لا يستطيع الكثير من الثدييات، ومنها الإنسان، هضم السليولوز، بسبب افتقارها لإنزيم هيدرولاز نوعي يهاجم ويحطم الروابط β. لذلك فالسليولوز هو المسؤول الأهم عن ضخامة حجم الوجبات الغذائية. لكن يوجد في أمعاء المجترات وغيرها من آكلات الأعشاب، أحياء مجهرية تستطيع مهاجمة وتحطيم الروابط β، فيصبح السليولوز متاحاً كمصدر أساسي مولد للحرارة. علماً أنه يمكن أن تحدث هذه العملية أيضاً على نطاق محدود في قولون الإنسان.

الكيتين (Chitin) وهو من عديدات السكريد المهمة بنيوياً عند اللافقاريات، فهو يوجد على سبيل المثال في الهيكل الخاري للقشريات والحشرات. وهو يتألف بنيوياً من وحدات N– أسيتيل –D– جلوكوز أمين متصلة مع بعضها بوساطة روابط β (1←4) – جليكوزيدية (الشكل 15-16).

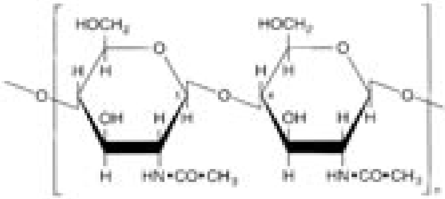
الجليكوز أمينو جليكانات (Glycosaminoglycans)، وهي تتألف من سلاسل من سكريات معقدة تتميز باحتوائها على السكاكر الأمينية والأحماض اليورونية. وعندما ترتبط هذه السلاسل بجزيء البروتين، فإن المركب يعرف باسم

البروتيوجليكان (الجليكانات البروتينية) (Proteoglycan) ولأنها تعد كمادة أساسية أو كمادة حشوية، فهي تترابط مع عناصر بنيوية في الأنسجة مثل العظم والإيلاستين (Elastin) والكولاجين (Collagen) (المغراء). وإن ما يدعم خاصيتها في الاحتفاظ بكميات كبيرة من الماء وبشغل حيزّ وبالتالي بتلطيف أو بتسهيل حركة البنى الأخرى، هو وجود عدد كبير من الزمر -HO والشحنات السالبة على الجزيئات، وهذا هو الذي يؤدي بوساطة التنافر إلى إبقاء سلاسل السكريات كل منها بمعزل عن الأخرى. ونذكر من الأمثلة على هذه المركبات: حمض الهيالوروني (Hyaluronic acid) وسلفات الكندرويتين (Chontroitin sulfate) والهيبارين (Heparin) (الشكل 15-16) وهي ستناقش بالتفصيل في (الفصل 57).

الهكسوزات	المانوز (Man) الجالاكتوز (Gal)
الأسيتيل هكسوز أمينات	N– أسيتيل جلوكوز أمين (Glc Nac) N– أسيتيل جالاكتوز أمين y (Gal Nac)
البنتوزات	أرابينوز (Ara) الزيلوز (Xyl)
ميتيل بنتوز	L– فوكوز (Fucy؛ انظر الشكل 15-17).
الأحماض السيالية	مشتقات N – أسيل حمض النورأمينيك، مثل حمض N– أسيتيل نور أمينيك (NeuAc، انظر الشكل 15-18)، وهو الحمض السيالي السائد.

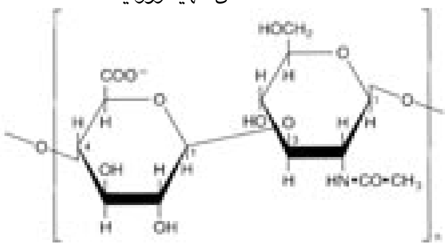
الجدول 15-5 : السكريات الموجودة في البروتينات السكرية

الكيتين



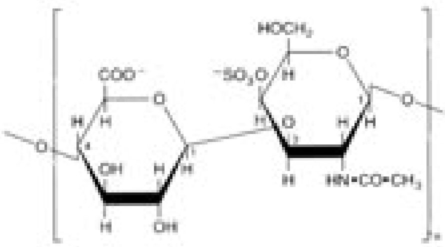
N– أسيتيل جلوكوز أمين　　N– أسيتيل جلوكوز أمين

حمض الهيالورونيك.



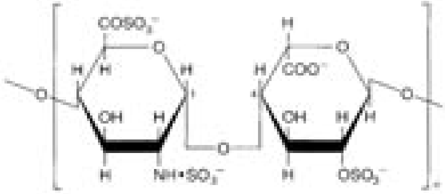
N– أسيتيل جلوكوز أمين　　حمض β– جلوكورونيك

كندرويتين 4 –سلفات (ملاحظة: يوجد أيضاً، 6 –سلفات)



N– أسيتيل جلوكوز أمين سلفات　　حمض β– جلوكورونيك

هيبارين



حمض الأيدورونيك المسلفت (المكبرت)　　جلوكوز أمين المسلْفت (المكبرت)

الشكل 15-16: بنية بعض عديدات السكريد والجليكانات الجليكوأمينية المعقدة.

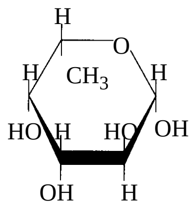
البروتينات السكرية (Glycoproteins) وهي توجد في مواقع متعددة ومختلفة في السوائل والأنسجة، بما فيها الأغشية الخلوية (الفصلان 43 و 56). وهي بروتينات تحوي سكريات بكميات متباينة مرتبطة بشكل سلاسل طويلة أو قصيرة (حتى 15 وحدة) متفرعة أو غير متفرعة. وتُسمى مثل هذه السلاسل عادة بالسلاسل قليلات السكريدات (يعتقد أنها قد تتجاوز أحياناً 10 وحدات). ويبين (الجدول 15-5) السكريات الداخلة في تركيب البروتينات السكرية. لا يوجد الجلوكوز في البروتينات السكرية الناضجة فيما عدا الكولاجين، وخلافاً للجليكوز أمينوجليكانات والبروتيوجليكانات، تكون الأحماض اليورونية غير موجودة هنا.

الأحماض السيالية (Sialic acids) مشتقات N– أو O– أسيل لحمض النورأمينيك (الشكل 15-18). حيث إن حمض النورأمينيك هو سكر من ثماني ذرات كربون يشتق من المانوز أمين (وهو إبيمر للجلوكوز أمين) والبيرو. وتعد الأحماض السيالية من مكونات كل من البروتينات السكرية والجنجليوزيدات (الفصل 16 و56). حيث الجنجليوزيدات هي أيضاً شحميات سكرية.

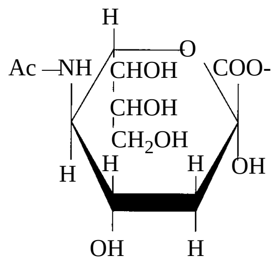
توجد السكريات في الأغشية الخلوية والبروتينات الشحمية:

وصفت البنية الشحمية للغشاء الخلوي في الفصلين 16 و 43. ومع ذلك فإن تحليل مكونات الغشاء الخلوي للثدييات قد بيّن أن ما يقارب 5٪ منها هي سكريات توجد على شكل بروتينات سكرية وشحميات سكرية. كما توجد السكريات أيضاً في بعض البروتينات الشحمية، مثل البروتين الشحمي خفيض الكثافة (LDL) حيث أن وجودها على السطح الخارجي للغشاء البلازمي (الكنان السكري) (Glycocalyx) قد توضح باستعمال الليكتينات (Lectins) النباتية، التي هي راصات نباتية ترتبط نوعياً ببعض ثمالات الجليكوزيل. فعلى سبيل المثال، يتميز الكونكاناڤالين A (Concanavalin A) بنوعية تجاه ثمالات α – جلوكوزيل و α – مانوزيل. ويعد الجليكوفورين (Glycophorin) البروتين السكري الأساسي المتمم في الغشاء الخلوي للكريات الحمر عند الإنسان، وهو يتألف من 130 ثمالة حمض أميني ويجتاز الغشاء الدهني ليصبح له بذلك مناطق (أو أقسام) من عديدات ببتيد

حـرة خـارج كل من السطحين الخـارجي والداخلي (البـلازمي). وترتبط سـلاسل السكريات فقط بالقسم الطرفي الأميني خارج السطح الخارجي (الفصل 43).



الشكل 15-17: β -L- فوكوز (6– ديوكسي -β - L جالاكتوز).



الشكل 15-18: بنية حمض N – أسيتيل نورأمينيك، أي حمض السياليك (AC=cH3-CO-).

الخلاصة:

1 – تعد السكريات من المكونات الأساسية في غذاء الحيوان وأنسجته ويمكن تمييزها بنمط وعدد ثمالات أحاديات السكريدات الموجودة في جزيئها.

2 – الجلوكوز هو أكثر السكريات أهمية من الناحية الكيميائية الحيوية عند الثدييات، لأن كل السكريات ـ تقريباً ـ الموجودة في الطعام تتحول إلى الجلوكوز لكي تدخل في الأيض التالي.

3 – تمتلك السكريات عدداً كبيراً من المصاوغات الفراغية لأنها تحوي عدة ذرات من الكربون اللاامتناظر.

4 – تشمل أحاديات السكريدات ذات الأهمية الفيزيولوجية: الجلوكوز (سكر الدم) والريبوز وهو مكون مهم في النوكليوتيدات والأحماض النووية.

5 – من ثنائيات السكريد ذات الأهمية الفيزيولوجية: المالتوز وهو متوسط مهم في هضم النشا والجليكوجين، والسكروز وهو مهم كمكون غذائي يحوي الفركتوز والجلوكوز، واللاكتوز وهو السكر الوحيد الموجود في الحليب ويحوي الجالاكتوز والجلوكوز.

6 – النشا والجليكوجين هي مكثورات ادخارية للجلوكوز في النباتات والحيوانات على الترتيب. وهي المصادر الرئيسة للطاقة في الطعام.

7 – تحوي السكريات المعقدة مشتقات سكرية أخرى مثل السكاكر الأمينية والأحماض اليورونية والأحماض السيالية. وهي تشمل البروتيوجليكانات والجليكوز أمينو جليكانات التي تترابط مع العناصر البنيوية في الأنسجة، والبروتينات السكرية التي هي بروتينات تحوي سلاسل من قليلات سكريدات مرتبطة توجد في مواقع متعددة بما فيها الغشاء الخلوي.

*** References:**

Collins PM (editor): *Carbohydrates.* Chapman & Hall,1987.

EL-Khadem HS: *Carbohydrate Chemistry: Monosaccharices and Their Oligomers.* Academic Press, 1988.

Ferrier RJ, Collins PM: *Monosaccharide Chemistry.* Penguin Books, 1972.

Lindahl U, Hook M: Glycosaminoglycans and their binding to biological macromolecules. *Annu Rev Biochem* 1978;47:385.

Melendes-Hevia E, Waddell TG, Shelton ED: Optimization of molecular design in the evolution of metabolism: The glycogen molecule. *Biochem J* 1993;295:477.

Pigman WW, Horton D (editors): *The Carbohydrates*, vols. I A (1972) and I B (1980) . Academic Press.

Rees DA: *Polysaccharide Shapes.* Wiley, 1977.

Sharon N: Carbohydrates. *Sci Am* 1980 (Nov);243:90.

الفصل السادس عشر

الشحميات ذات الأهمية الفيزيولوجية

Lipids of Physiologic Significance

مقدمة:

الشحميات هي مجموعة غير متجانسة (Heterogenous) من المركبات التي تتشابه بخصائصها الفيزيائية أكثر من خصائصها الكيميائية. وهي ذات خاصية مشتركة كونها (1) غير ذوابة نسبياً في الماء و (2) ذوابة في المذيبات اللاقطبية، مثل الإثير والكلوروفورم والبنزين. وبذلك تتضمن كل من الدهون والزيوت والستيرويدات والشموع والمركبات الأخرى القريبة منها. وهي مكونات غذائية مهمة ليس فقط بسبب قيمتها الطاقية العالية، بل وأيضاً بسبب احتوائها الفيتامينات الذوابة في الدهن والأحماض الدهنية الضرورية الموجودة في الأجزاء الدهنية من الأطعمة المتوافرة في الطبيعة.

الأهمية الطبية البيولوجية:

تعد الدهون في جسم الإنسان مصدراً فعالاً للطاقة الكامنة والمباشرة عندما تخزن في النسيج الشحمي. وهي تعمل كعازل حراري في الأنسجة تحت الجلدية وحول بعض الأعضاء، كما تعمل الشحميات اللاقطبية كعوازل كهربائية تسمح بالانتقال السريع لأمواج إزالة الاستقطاب (Depolarization) على طول الأعصاب الميلينية (النخاعينية).

يحتوي النسيج العصبي على نحو خاص كمية كبيرة من الدهون. وتشكل تراكيب البروتين والدهون (بروتينات شحمية) مكونات خلوية مهمة موجودة في الغشاء الخلوي وفي المتقدرات ضمن الهيولى، وهي تعمل أيضاً كوسائل لنقل الشحميات في الدم. وتعد معرفة الكيمياء الحيوية للشحميات أمراً هاماً لفهم العديد من مجالات اهتمام العلوم الطبية الحيوية حالياً مثل السُمنة (Obesity) وتصلب الشرايين (Atherosclerosis)، وأيضاً لفهم دور مختلف الأحماض الدهنية متعددة اللا إشباع في التغذية والصحة.

تصنيف الشحميات كبسيطة أو كمعقدة:

وضع العالم بلور (Bloor) التصنيف التالي للشحميات:

1 – شحميات بسيطة: هي إسترات الأحماض الدهنية مع كحولات مختلفة وهي:

أ– الدهون (Fats): وهي إسترات الأحماض الدهنية مع الجليسرول. ويُعْرَف الدهن الموجود بحالة سائلة بأنه زيت.

ب – الشموع (Waxes): وهي إسترات الأحماض الدهنية مع كحولات أحادية الهيدروجين ذات وزن جزيئي مرتفع.

2 – شحميات معقدة: هي إسترات الأحماض الدهنية الحاوية زمراً أخرى إضافة للكحول والحمض الدهني. وهي:

أ – الشحميات الفسفورية (Phospholipids): وهي شحميات تحوي، بالإضافة للأحماض الدهنية والكحول، ثمالة من حمض الفسفوريك. كما أنها تحتوي غالباً على أسس آزوتية وأبدال (أي مجموعات بديلة Substituents) أخرى، ففي الشحميات الفسفورية الجليسرولية يكون الكحول جليسرولاً، أما في الشحميات الفسفورية السفنجولية فيكون السفنجوزين.

ب – الشحميات السكرية (Glycolipids) (الشحميات السفنجولية السكرية): هي شحميات تحوي حمضاً دهنياً وسفنجوزين وسكريات.

جـ - شحميات معقدة أخرى، مثل الشحميات الكبريتية والشحميات الأمينية ويمكن إدراج البروتينات الشحمية ضمن هذه الفئة أيضاً.

3 - الشحميات المشتقة والطليعية: وهي تشمل الأحماض الدهنية والجليسرول والستيرويدات والكحولات بالإضافة للجليسرول والستيرولات والألدهيدات الدهنية والأجسام الكيتونية (الفصل 24) والسكريات والڤيتامينات الذوابة في الدهن والهرمونات.

ونظراً لأن مركبات أسيل الجليسرول (الجليسريدات) وإسترات الكولستريل هي جزيئات غير مشحونة، فلقد أطلق عليها مصطلح الشحميات المتعادلة (Neutral Lipids).

الأحماض الدهنية هي أحماض كربوكسيلية أليفاتية:

توجد الأحماض الدهنية بشكل رئيس على شكل إسترات في الدهون والزيوت الطبيعية، لكنها توجد بشكل غير مؤستر كأحماض دهنية حرة، وهو الشكل المنقول الموجود في البلازما. تكون الأحماض الدهنية الموجودة في الدهون الطبيعية كمشتقات ذات سلسلة مستقيمة عادة، وتحوي عدداً زوجياً من ذرات الكربون لأنها تخلق من وحدات ثنائية الكربون. وقد تكون السلسلة مشبعة (Saturated) (أي لا تحوي روابط مضاعفة) أو لا مشبعة (Unsaturated) (أي تحوي واحدة أو أكثر من الروابط المضاعفة).

تسمى الأحماض الدهنية وفقاً للهيدروكربونات الموافقة:

تعتمد التسمية التصنيفية الأكثر استعمالاً على تسمية الحمض الدهني وفقاً للهيدروكربون الذي فيه نفس عدد وترتيب ذرات الكربون، وذلك مع وضع اللاحقة oic – (أوييك) مكان النهاية e – في اسم الهيدركربون (نظام جنيڤ).

وعلى هذا الشكل تنتهي أسماء الأحماض المشبعة بالنهاية أنوييك (anoic-) مثل حمض الأوكتانوييك، وأسماء الأحماض اللامشبعة ذات الروابط المضاعفة بالنهاية إينوييك (enoic-) مثل الأوكتاديسينوييك (حمض الأولييك أو حمض الزيت).

ترقم ذرات الكربون بدءاً من كربون الكربوكسيل (الكربون رقم 1). وتعرف ذرة الكربون المجاورة لكربون الكربوكسيل (أي رقم 2) بالكربون ـ (ألفا) أيضاً. أما ذرات الكربون رقم 3 و 4 فهي الكربون بيتا β وجاما γ على الترتيب، ويعرف الكربون الطرفي الميثيلي بالكربون أو بذرة الكربون -n.

توجد اصطلاحات مختلفة تستعمل للدلالة على عدد الروابط المضاعفة وموضعها، فمثلاً يشير الرمز Δ^9 إلى رابطة مضاعفة واقعة بين ذرتي الكربون 9 و 10 من الحمض الدهني، ويشير ω^9 إلى رابطة مضاعفة على الكربون التاسع ابتداء بالترقيم من ذرة الكربون ω. ويعرض الشكل (16-1) الاصطلاحات المستخدمة بشكل واسع للإشارة إلى عدد ذرات الكربون ولعدد الروابط المضاعفة ولمواقعها. وتوجد في الحيوانات روابط مضاعفة إضافية فقط بين الرابطة المضاعفة الموجودة (مثل ω^9 وω^6 أو ω^3) والكربون الكربوكسيلي وهذا يؤدي إلى وجود ثلاث سلاسل من الأحماض الدهنية تعرف بالفصائل (ω^9 و ω^6 أو ω^3) على الترتيب.

18:1;9 *or* Δ^9 18:1

$$\overset{18}{C}H_3(CH_2)_7\overset{10}{C}H = \overset{9}{C}H(CH_2)_7\overset{1}{C}OOH$$

أو

ω9,C18:1 *or* n-9, 18:1

$$\underset{17}{\overset{\omega}{C}H_3}\overset{2}{C}H_2\overset{3}{C}H_2\overset{4}{C}H_2\overset{5}{C}H_2\overset{6}{C}H_2\overset{7}{C}H_2\overset{8}{C}H_2\underset{10}{\overset{9}{C}H} = \underset{9}{\overset{10}{C}H}(CH_2)_7\underset{1}{\overset{18}{C}OOH}$$

الشكل 16-1: حمض الأولييك. n-9 (أي n ناقص 9) يساوي ω9.

لا تحوي الأحماض الدهنية المشبعة روابط مضاعفة:

يمكن تصور الأحماض الدهنية المشبعة اعتماداً على بنية حمض الأستيك (CH_3-COOH) وهو العضو الأول من سلسلة مركبات يضاف فيها بالتدريج الزمرة (-CH_2-) وذلك بين زمرتي CH_3 و -COOH الطرفيتين (النهائيتين). ويعرض الجدول (1-16) أمثلة على هذه المركبات. ويوجد إضافة إلى ذلك أحماض بعدد أكبر من ذرات الكربون في الشموع بشكل خاص. كما عزلت بضع أحماض دهنية متفرعة السلسلة من مصادر حيوانية ونباتية على حد سواء.

تحتوي الأحماض الدهنية اللامشبعة رابطة مضاعفة واحدة أو أكثر:

يمكن تقسيم هذه الأحماض الدهنية على الشكل التالي:

1– أحماض أحادية اللاإشباع (أحادية الإيثينويد، أحادية الإينوييك) تحوي رابطة مضاعفة واحدة.

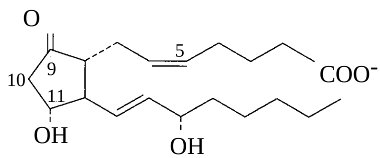
2 – أحماض متعددة اللاإشباع (متعددة الإيتينويد، متعددة الأينويك) تحوي رابطتين مضاعفتين أو أكثر.

3 – الايكوزانويدات، وتشتق هذه المركبات من الأحماض الدهنية متعددة الاينوييك (20 كربوناً) الايكوزية، وهي تضم البروستانويدات (Prostanoids) واللوكوترينات (Leukotrienes) (LTs) والليبوكزينات (LXs) (Lipoxins) وتضم البروستانويدات كلاً من البروستاجلاندينات (PGs) (Prostaglandins) والبروستاسيكلينات (PGIs) (Prostacyclins) والثرومبوكسانات (TXs) (Thromboxanes).

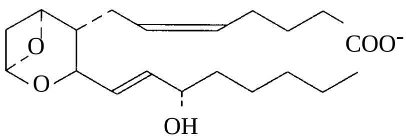
اكتشفت البروستاجلاندينات أصلاً في بلازما السائل المنوي، لكن من المعروف الآن أنها توجد فعلياً في كل الأنسجة عند الثدييات، وهي تعمل كهرمونات موضعية، وتتمتع بفعاليات دوائية وفيزيولوجية مهمة. ويتم تخليقها في الأحياء عن طريق تحلق (Cyclization) (أي تشكيل حلقة مغلقة) مركز السلسلة الكربونية التابعة لأحماض دهنية متعددة اللاإشباع ذات 20 ذرة كربون (إيكوزانويكية)، (مثل حمض

الأراكيدونيك: زيت الفول السوداني) فتتشكل حلقة السيكلوبنتان (الشكل 16-2). وهناك مجموعة قريبة من المركبات هي الثرومبوكسانات، التي اكتشفت في الصفيحات الدموية، وفيها أيضاً حلقة السيكلوبنتان لكنها تكون متقاطعة مع ذرة أكسجين (أي حلقة الأوكسان) (الشكل 16-3).

وهناك ثلاث أحماض دهنية إيكوزانويكية مختلفة تعطي ثلاث مجموعات من الايكوزانويدات تتميز بعدد الروابط المضاعفة الموجودة في السلاسل الجانبية، مثل PG1و PG2و PG3. وتؤدي الاختلافات في الزمر البديلة المتصلة بالحلقات إلى ظهور أنماط مختلفة في كل مجموعة من البروستاجلاندينات والثرومبوكسانات يرمز لها بن A و B وهكذا. فمثلاً، النمط E من البروستاجلاندينات (كما في PGE_2) فيه زمرة كيتونية بالموقع 9، في حين أن النمط F فيه زمرة هيدروكسيل في هذا الموقع. والمجموعة الثالثة من المشتقات الإيكوزانويدية هي اللوكوترينات والليبوكزينات، وهي تتشكل في سبيل الليبوأكسيجيناز (الأكسيجيناز الشحمية) بشكل أفضل من تشكلها عن تحلق سلسلة الحمض الدهني (الشكل 16-4). ولقد وصفت أولاً في الكريات البيض، وهي تتميز بوجود ثلاث أو أربع روابط مضاعفة مقترنة على التوالي.



الشكل 16-2: البروستاجلاندين E_2(PGE_2).



الشكل 16-3: الثرومبوكسان A_2(TXA_2).

الاسم الشائع	عدد ذرات الكربون	
حمض الفورميك[1]	1	يلعب دوراً في استقلاب الوحدات "C_1" (الفورمات)
حمض الأسيتيك	2	ناتج نهائي رئيس عن تخمر السكريات عند المجترات [2]
حمض البروبيونيك	3	ناتج نهائي رئيس عن تخمر السكريات عند المجترات [2]
حمض البوتيريك	4	توجد في بعض الدهون بكميات قليلة (بخاصة في الزبدة) وهي ناتج نهائي رئيس عن تخمر السكريات عند المجترات[2]
حمض الڤاليريك	5	
حمض الكبروييك	6	
حمض الكابريليك (الأوكتانويك)	8	توجد بكميات قليلة في العديد من الدهون (بما فيها الزبدة) وبخاصة في الدهون ذات المنشأ النباتي
حمض الكابريك (ديسانويك)	10	
حمض اللوريك	12	يوجد في العنبر والقرفة ونواة البلح وزيوت جوز الهند والغار والزبدة
حمض الميريستيك	14	يوجد في جوزة الطيب ونواة البلح وزيوت جوز الهند والآس والزبدة
حمض البالميتيك	16	شائعة في كل الدهون النباتية والحيوانية
حمض الستيريك	18	
حمض الأراكيديك	20	زيت الفول السوداني
حمض البهينيك	22	البذور
حمض اللجنوسيريك	24	السربروزيدات وزيت الفول السوداني.

الجدول 16-1: الأحماض الدهنية المشبعة.

1 – هو ليس تماماً بمشتق ألكيلي. 2 – تتشكل أيضاً في الأعور عند الحيوانات العاشبة وبدرجة أقل في قولون الإنسان..

عدد ذرات الكربون وعدد الروابط المضاعفة ومواقعها	السلسلة	الاسم الشائع	الاسم النظامي	المصدر
الأحماض أحادية الإينويك (رابطة مضاعفة واحدة)				
16 : 1 ؛ 9	ω7	الباليمتوليئيك	الهكزاديسينوئيك –9– المقرون	في كل الدهون
18 : 1 ؛ 9	ω9	الأولئيك	الأوكتاديسينويك –9– المقرون	على الأرجح هو الحمض الدهني الأكثر شيوعاً في الدهون الطبيعية
18 : 1 ؛ 9	ω9	الإيلايديك	الأوكتاديسينويك –9– المفروق	الدهون المهدرجة ودهون المختبرات
22: 1 ؛ 13	ω9	الإيروسيك	الدوكوسينويك -13– المقرون	زيوت بذور الخردل واللفت
24 : 1 ؛ 15	ω9	النرڤونيك	التتراكوسينويك –15– المقرون	في السربروزيدات
الأحماض ثنائية الإينوئيك (رابطتين مضاعفتين)				
18: 2 ؛ 9، 12	ω6	اللينولييك	الاوكتاديكادينويك–9– 12– المقرون – a11	في زيوت الذرة والفول السوداني وبذر القطن وفول الصويا وأخرى نباتية عديدة
الأحماض ثلاثية الإينوئيك (ثلاث روابط مضاعفة)				
18:3؛ 6 ، 9 ، 12	ω6	γ – لينولينيك	الأوكتاديكادينويك –6– 9 – 12 المقرون – a11	في بعض النباتات مثل زيت زهرة الربيع المسائية وزيت نبات لسان الثور، وهو حمض دهني ثانوي في الحيوانات
18 : 3 ؛ 9، 12 ، 15	ω3	α – لينولينيك	الأوكتاديكاترينويك –9 – 12– 15 المقرون – all	يوجد غالباً مع حمض اللينولييك لكن على نحو خاص في زيت بذر الكتان

الجدول 6-2 : الأحماض الدهنية اللامشبعة ذات الأهمية الفيزيولوجية والتغذوية.

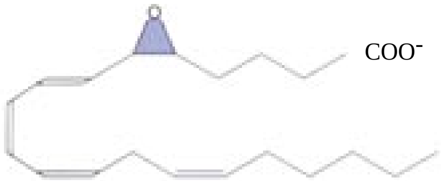
الجدول 6-2 : الأحماض الدهنية اللامشبعة ذات الأهمية الفيزيولوجية والتغذوية.

عدد ذرات الكربون وعدد الروابط المضاعفة ومواقعها	السلسلة	الاسم الشائع	الاسم النظامي	المصدر
الأحماض رباعية الإينويك (أربع روابط مضاعفة)				
14،11،8،5؛4:20	ω6	الاراكيدونيك	الايكوزاتترانويك –5 – 8– 11 – 14 المقرون all-	يوجد في الدهون الحيوانية وفي زيت الفول السوداني، وهو مكون مهم في الشحوم الفسفورية في الحيوانات
الأحماض خماسية الإينويك (خمس روابط مضاعفة)				
17،14،11،8؛5:20	ω3	التيموندونيك	الايكوزاتترانوئيك –5 – 8– 11 – 14– 17 المقرون -all	مكون مهم في زيوت الأسمام مثل زيت كبد سمك القدّ والآسقمري والمنهدين (من الرنجة) والسلمون
19،16،13،10،7؛5:22	ω3	الكوبانودونيك	ألدوكوزابنتانوئيك –7– 10–13–16–19– المقرون – all	زيوت الأسماك، الشحمات الفسفورية في الدماغ
الأحماض سداسية الإينويك (ست روابط مضاعفة)				
19،16،13،10،،74:6:22	ω3	السرڤونيك	ألدوكوزاهكسانويك – 4– 7– 10– 13–16– 19– المقرون -all	زيوت الأسماك، الشحمات الفسفورية في الدماغ

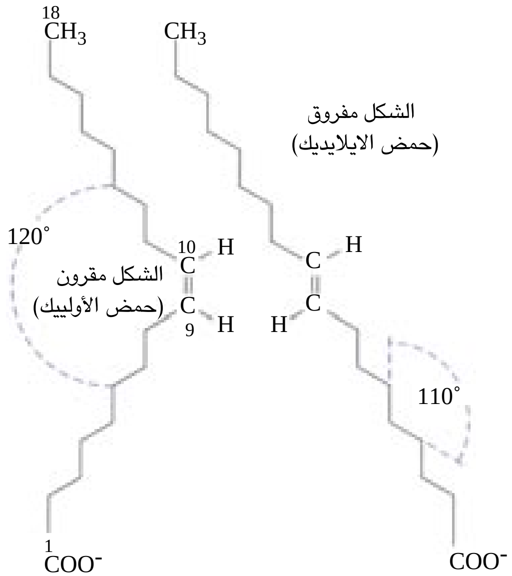
يوجد في معظم الأحماض الدهنية اللامشبعة الموجودة في الطبيعة روابط مضاعفة مقرونة:

تأخذ السلاسل الكربونية في الأحماض الدهنية المشبعة شكل الخط المتكسر عند بسطها، مثلما يحدث في درجات الحرارة المنخفضة. أما في درجات الحرارة المرتفعة فإن بعض الروابط تدور، فينقص طول السلسلة (يقصر)، وهذا يفسر لماذا تصبح الأغشية أقل ثخانة مع ارتفاع درجة الحرارة. كما يحدث نمطاً من المصاوغة الهندسية (Geometric isomerism) في الأحماض الدهنية اللامشبعة، بحسب اتجاه الذرات أو الزمر الواقعة حول محاور الروابط المضاعفة. فإذا كانت سلاسل الأسيل بجهة الرابطة نفسها فإنه يكون من النمط مقرون *Cis* – مثل حمض الأولييك، أما إذا كانت بجهة معاكسة فإن النمط هو مفروق *Trans* ـ مثل حمض الإيلايديك وهو المصاوغ غير الطبيعي لحمض الأولييك (الشكل 16-5).

وتكون تقريباً كل الأحماض الدهنية طويلة السلسلة غير المشبعة الموجودة في الطبيعة هي على الشكل -*Cis* مقرون، حيث تكون الجزيئات منحنية بزوايا 120؛ عند الرابطة المضاعفة. لذلك يأخذ حمض الأولييك الهيئة L، بينما يبقى حمض الإيلايديك مستقيماً عند رابطته المضاعفة المفروقة. ويؤدي ازدياد عدد الروابط المضاعفة المقرونة في الحمض الدهني إلى تعدد الأشكال الفراغية الممكنة للجزيء الواحد، فمثلاً حمض الأراكيدونيك، الذي يحوي أربع روابط مضاعفة مقرونة، قد يأخذ هيئة U أو شكل حُلَيّقي (مفتل). وقد يكون لذلك أهمية كبيرة لتسهيل الحشو الجزيئي في الأغشية وعلى المواقع التي تشغلها الأحماض الدهنية في جزيئات أكثر تعقيداً مثل الشحميات الفسفورية. إن وجود الروابط المضاعفة المفروقة سوف يبدل هذه العلاقات الفراغية. توجد الأحماض الدهنية المفروقة في بعض الأطعمة، وينشأ معظمها كناتج ثانوي في أثناء عملية إشباع الأحماض الدهنية بوساطة الهدرجة، أو تصليد (تقسية) الزيوت الطبيعية في مصانع المرجرين. كما أنها مساهمة صغيرة إضافية تأتي من تناول دهن المجترات الحاوي أحماضاً دهنية مفروقة تنشأ عن تأثير الأحياء المجهرية في الكرش.



الشكل 16-4: اللوكوترين A_4(LTA_4).



الشكل 16-5: المصاوغة الهندسية للأحماض الدهنية D9 18:1 (حمضي الأولييك والإيلايديك).

تعكس الخواص الفيزيائية والفيزيولوجية للأحماض الدهنية طول السلسلة ودرجة اللا إشباع:

وكمثال على ذلك، تزداد درجة انصهار الأحماض الدهنية التي فيها عدد ذرات الكربون زوجي مع ازدياد طول السلسلة وتتناقص بحسب درجة اللا إشباع. فثلاثي أسيل الجليسرول الذي يحوي فقط أحماضاً دهنية من 12 ذرة كربون أو أكثر يكون صلب القوام في درجة حرارة الجسم، أما إذا كانت جميع ثمالات الأحماض الدهنية الثلاث فيه هي من النمط 18 : 2، فهو يكون سائلي القوام عند درجة حرارة أقل من الصفر. وعملياً، تحوي مركبات أسيل الجليسرول الطبيعية مزيجاً من الأحماض الدهنية المناسبة لأدوارها الوظيفية. فالشحميات الغشائية، التي يجب أن تكون سائلة في كل درجات حرارة البيئة المحيطة، هي أكثر لاإشباعاً من الشحميات الادخارية. والشحميات في الأنسجة المعرضة للبرودة، كما هو الحال عند حيوانات السُبات الشتوي أو في أطراف الحيوانات، تكون أكثر لا إشباعاً.

توجد بعض الكحولات في الشحميات الطبيعية:

تضم الكحولات التي ترتبط مع الشحميات كلاً من الجليسرول والكولسترول والكحولات الأعلى (مثل الكحول سيتيل؛ $C_{16}H_{33}OH$) وتوجد عادة في الشموع، وأيضاً الدوليكول (Dolichol) الكحولي متعدد الأيزوبرينويد (الشكل 16-26).

ثلاثيات أسيل الجليسرول (ثلاثيات الجليسريد*) هي الأشكال الادخارية الرئيسة للأحماض الدهنية:

ثلاثيات أسيل الجليسرول هي إسترات لكحول الجليسرول والأحماض الدهنية. وفي الدهون الموجودة في الطبيعة، فإن نسبة جزيئات ثلاثيات أسيل الجليسرول

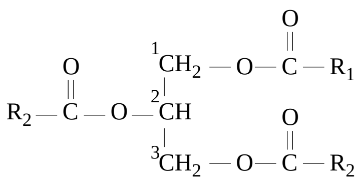
** بموجب المصطلحات المعيارية للاتحاد الدولي للكيمياء النظرية والتطبيقية (IUPAC) والاتحاد الدولي للكيمياء الحيوية (IUB)، يجب أن تُسمى أحاديات الجليسريدات وثنائيات الجليسريدات وثلاثيات الجليسريدات؛ بأحاديات أسيل الجليسرول وثنائيات أسيل الجليسرول وثلاثيات أسيل الجليسرول على الترتيب. ومع ذلك، فإنه ما تزال تستخدم وبشكل واسع المصطلحات الأقدم بخاصة في الطب السريري.*

التي تحوي ثمالة الحمض الدهني ذاتها في جميع مواقع الإستر الثلاث تكون صغيرة جداً. وجميعها تقريباً مركبات أسيل جليسرول مختلطة. ففي (الشكل 16-6)، إذا كانت كل الأحماض الدهنية الثلاث الممثلة بالرمز " R" هي حمض الستيريك فإن الدهن يُعرف باسم ثلاثي الستيرين. ويعرض (الشكل 16-7) مثالاً عن أسيل جليسرول مختلط.

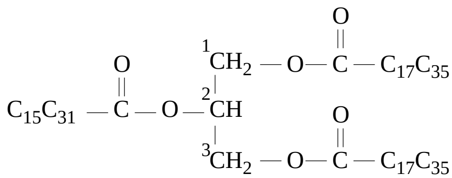
تكون ذرتا الكربون 1 و 3 من الجليسرول غير متماثلتين:

عندما يكون من الضروري ترقيم ذرات الكربون في الجلسيرول دون حدوث أي التباس، فإنه يستعمل نظام الترقيم –Sn– الترقيم الكيميائي الفراغي (Stereochemical numbering)، مثل 1، 3 – ثنائي ستيريل –2– بالميتيل –Sn– جليسرول (المعروض أيضاً كصيغة إسقاطية في الشكل 16-8) ومن المهم إدراك أن ذرتي الكربون 1و 3 في الجليسرول ليستا متماثلتين عندما ينظر إليه في ثلاثة أبعاد. وتستطيع الإنزيمات أن تميز بسهولة وبسرعة بينهما، وهي دائماً تكون تقريباً نوعية تجاه واحدة أو الأخرى من ذرتي الكربون، فمثلاً، يفسفت الجليسرول دائماً في الموقع Sn-3 بوساطة كيناز الجليسرول فيعطي الجليسرول –3– فسفات وليس الجليسرول -1- فسفات.

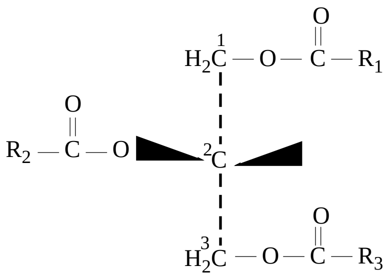
وتوجد أيضاً في الأنسجة مركبات أسيل الجليسرول وهو جزيء مؤلف من أحاديات وثنائيات أسيل الجليسرول يكون فيها حمض دهني واحد أو اثنان مؤسترة مع الجليسرول.



الشكل 16-6: ثلاثي أسيل الجليسرول.



الشكل 7-16: 1 ، 3 – ثنائي ستيروبالميتين.



الشكل 8-16: ثلاثي أسيل -Sn- جليسرول.

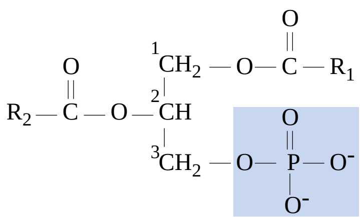
الشحميات الفسفورية هي المكونات الشحمية الرئيسية في الأغشية:

تضم الشحميات الفسفورية كلاً مما يلي (1): حمض الفسفاتيد وفسفاتيديل الجليسرول، و (2) فسفاتيديل الكولين، و (3) فسفاتيديل الايتانولامين، و (4) فسفاتيديل الإينوزيتول، و (5) فسفاتيديل السيرين، و (6) ليزو الشحميات الفسفورية (Lysophospholipids)، و (7) البلزمالوجينات، و (8) السفنجوميلينات. وتعد جميعها مركبات أسيل جليسرول فسفورية (Phosphoacyloglycerols)، فيما عدا السفينجوميلينات التي لا تحوي جليسرولاً. كما يمكن اعتبارها كمشتقات لحمض الفسفاتيد (Phosphatidic acid) (الشكل 9-16)، الذي تكون فيه زمرة الفسفات مؤسترة بزمرة -HO من كحول مناسب.

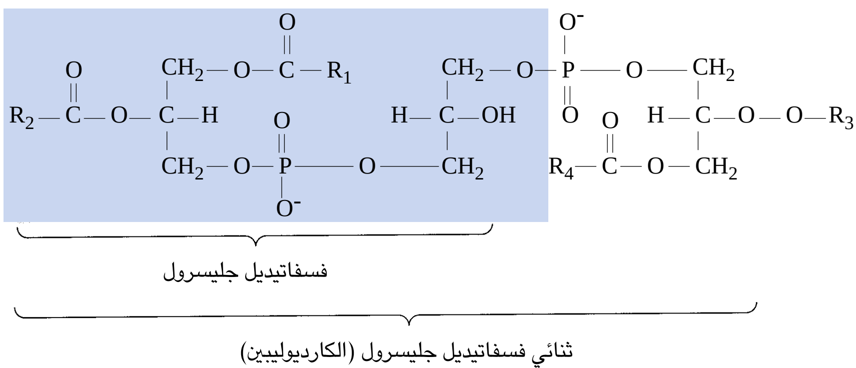
إن حمض الفسفاتيد مهم كمركب متوسط في سبيل تخليق ثلاثيات أسيل الجليسرول مركبات الجليسرول الفسفاتية أيضاً، لكنه لا يوجد بكميات كبيرة في الأنسجة.

الكارديوليبين هو الشحم الرئيسي في الأغشية المتقدرية:

يعد حمض الفسفاتيد طليعة لفسفاتيديل الجليسرول الذي يؤدي بدوره إلى تشكيل الكارديوليبين (Cardiolipin) (الشكل 16-10) في المتقدرات.



الشكل 16-9: حمض الفسفاتيديك.



الشكل 16-10: الكارديوليبين (ثنائي فسفاتيديل جليسرول).

توجد فسفاتيديلات الكولين (الليسيثينات) في الأغشية الخلوية:

فسفاتيديلات الكولين هي مركبات أسيل جليسرول فسفورية تحوي الكولين (الشكل 16-11). وهي أكثر الشحميات الفسفورية وفرة في الغشاء الخلوي وتشكل نسبة كبيرة من مخزون الجسم من الكولين، الذي يعد مركباً مهماً في الانتقال العصبي، مثل الأسيتيل كولين، وأيضاً كمخزون لزمر الميثيل المقلقلة. كما أن الليسيتين ثنائي البالميتول يعد عاملاً فعالاً بالسطح نشيطاً جداً ومكوناً أساسياً للعامل الفعّال بالسطح (Surfactant)الذي يمنع الالتصاق، الناجم عن التوتر السطحي، وذلك في السطوح الداخلية للرئتين. حيث يسبب غيابه من الرئتين عند الأطفال الخدج متلازمة الضائقة التنفسية (Respiratory distress syndrome) ويلاحظ أنه في معظم الشحميات الفسفورية يوجد جذر أسيل مشبع في الموقع Sn-1، أما الجذر اللامشبع فهو في الموقع Sn-2 من الجليسرول.

يختلف فسفاتيديل الإيثانولامين (السيفالين Cephalin) عن فسفاتيديل الكولين فقط في أن الإيثانولامين يحل مكان الكولين (الشكل 16-14).

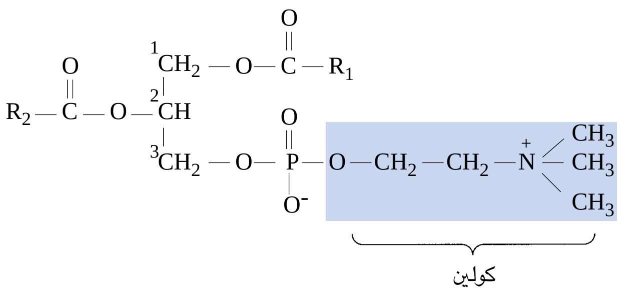
يحوي فسفاتيديل السيرين الحمض الأميني السيرين عوضاً عن الكولين، وهو يوجد في معظم الأنسجة (الشكل 16-13). ولقد عزلت أيضاً شحميات فسفورية تحوي الثريونين.

فسفاتيديل الإينوزيتول هو طليعة للمراسيل الثانية:

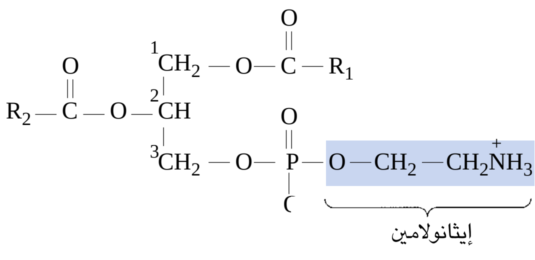
يوجد الإينوزيتول كمصاوغ فراغي هو الإينوزيتول العضلي (الشكل 16-14) في فسفاتيديل الإينوزيتول. وفسفاتيديل الإينوزيتول 4، 5– ثنائي الفسفات هو مكون مهم في الشحميات الفسفورية بالغشاء الخلوي؛ وهو، عند التحريض بوساطة ناهضة (شادة) هرمونية مناسبة، ينشطر إلى ثنائي أسيل جليسرول وإينوزيتول ثلاثي فسفات، حيث يعمل كل منهما كإشارة داخلية أو كمراسيل ثانية (الفصل 44).

ليزو الشحميات الفسفورية هي متوسطات في أيض مركبات الجليسرول الفسفورية:

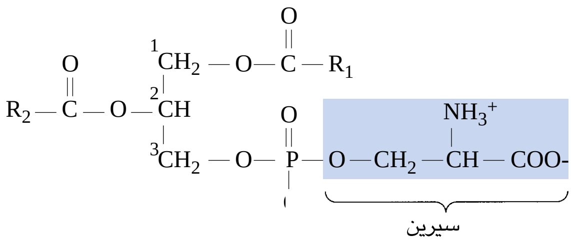
ليزو الشحميات الفسفورية هي مركبات أسيل جليسرول فسفورية تحوي جذر أسيل واحد فقط، مثل ليزوفسفاتيديل الكولين (ليزولسيتين) المهم في أيض الشحميات الفسفورية وتحولاتها (الشكل 16-15).



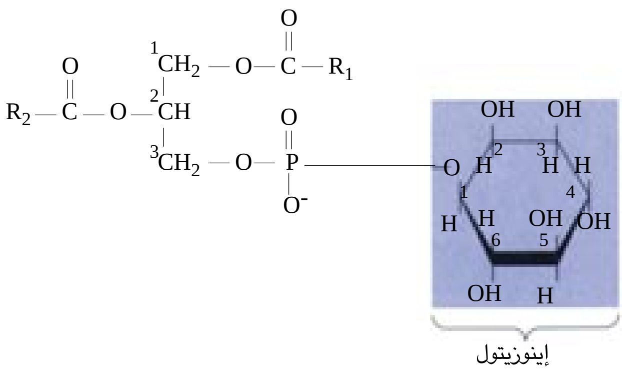
الشكل 16-11: 3 – فسفاتيديل كولين.



الشكل 16-12: 3 – فسفاتيديل إيثانولامين.



الشكل 16-13: 3 – فسفاتيديل سيرين.



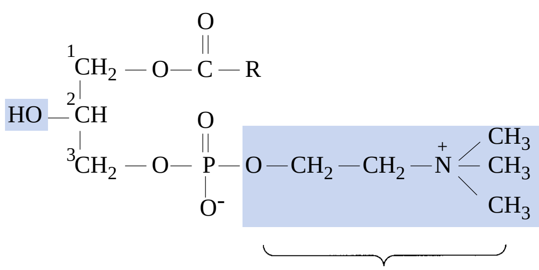
الشكل 16-14: 3 – فسفاتيديل إينوزيتول.

توجد البلزمالوجينات في الدماغ والعضلات:

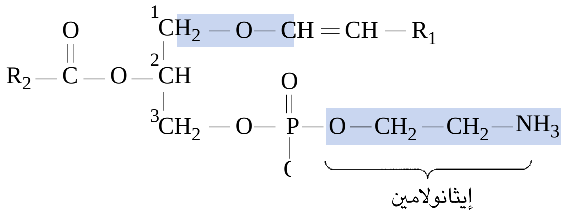
تشكل هذه المركبات نحو 10 ٪ من الشحميات الفسفورية الموجودة في الدماغ والعضلات. وهي من الناحية البنيوية تشبه فسفاتيديل الإيثانولامين، لكنها تملك رابطة إيتيرية عند الكربون Sn-1 عوضاً عن الرابطة الإسترية التي توجد بشكل طبيعي في مركبات أسيل الجليسرول. ويكون الجذر الألكيلي في الحالة النموذجية عبارة عن كحول لا مشبع (الشكل 16-16). وفي بعض الحالات قد يحل الكولين أو السيرين أو الإينوزيتول مكان الإيثانولامين.

توجد السفينجوميلينات في الجهاز العصبي:

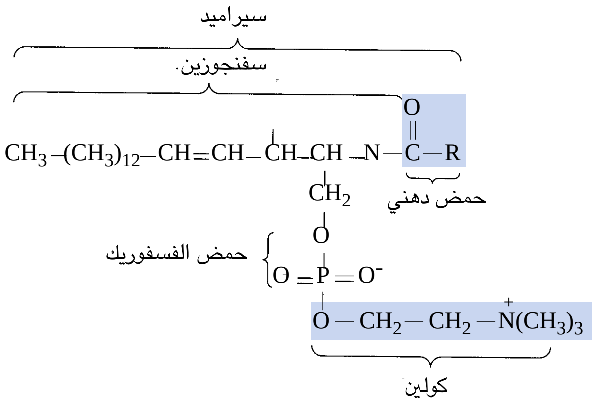
توجد السفينجوميلينات بكميات كبيرة في الدماغ والنسيج العصبي. وهي تعطي عند حلمهتها حمض دهني وحمض الفسفوريك والكولين وكحول أميني معقد هو السفينجوزين (Sphingosine) (الشكل 16-17). ولا يوجد الجليسرول فيها. ويشكل ارتباط السفينجوزين مع الحمض الدهني مركباً يعرف بالسيراميد (Ceramide)، وهي بنية توجد أيضاً في الشحميات السفينجولية السكرية (انظر الفقرة التالية).



الشكل 16-15: ليزوفسفاتيديل كولين (ليزوليسيتين).



الشكل 16-16: بلازمالوجين (فسفاتيديل إيثانولامين).



الشكل 17-16: بنية السفنجوميلين (العامة).

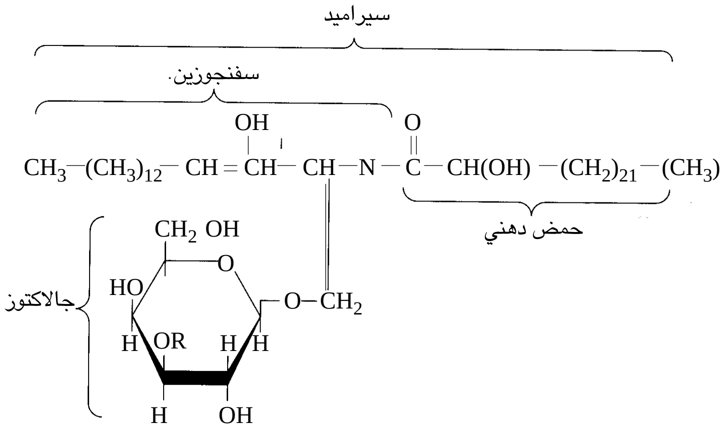
الشحميات السكرية (الشحميات السفينجولية السكرية) مهمة في الأنسجة العصبية وفي الغشاء الخلوي:

تتوزع الشحميات السكرية بشكل واسع في كل أنسجة الجسم، وبخاصة في النسيج العصبي كالدماغ. وهي توجد بشكل خاص في الوريقة الخارجية للغشاء البلازمي، حيث تساهم في السكريات الموجودة على سطح الخلية.

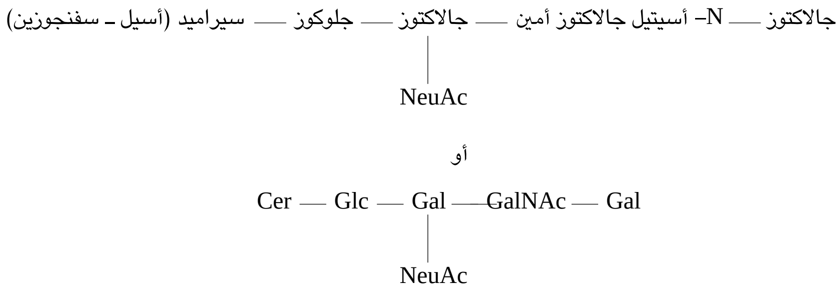
إن الشحميات السكرية الرئيسة الموجودة في الأنسجة الحيوانية هي الشحميات السفينجولية السكرية. وهي تحوي السيراميد وسكر واحد أو أكثر. وأبسط اثنين منها هما جالاكتوزيل سيراميد (Galactosylceramide) وجلوكوزيل سيراميد (Glucosylceramide). حيث الجالاكتوزيل سيراميد هو الشحم السفينجولي السكري الأساسي في الدماغ والأنسجة العصبية الأخرى، لكنه يوجد بكميات قليلة نسبياً في أماكن أخرى. وهو يحوي عدداً من الأحماض الدهنية المميزة فيها 24 ذرة كربون، مثل حمض السربرونيك. ويمكن للجالاكتوزيل سيراميد (الشكل 16-18) أن يتحول إلى سلفوجالاكتوزيل سيراميد (سلفاتيد نظامي)، الذي يوجد بكميات كبيرة في الميلين (النخاعين).

أما الجلوكوزيل سيراميد فهو شحم سفينجولي سكري بسيط يسود خارج الأنسجة العصبية، لكنه يوجد أيضاً في الدماغ بكميات قليلة. والجنجليوزيدات (Gangliosides) هي شحميات سفينجولية سكرية معقدة مشتقة من جلوكوزيل سيراميد الذي يحوي كذلك جزيء واحد أو أكثر من حمض السياليك (السيالي) (Sialic acid). ويعد حمض النورأمينيك (انظر الفصل 15) الحمض السيالي الأساسي الموجود في أنسجة الإنسان. وتوجد الجنجليوزيدات أيضاً في الأنسجة العصبية بتركيز كبير. ويبدو أنها تمتلك مستقبلاً وتقوم بوظائف أخرى. وأبسط جنجليوزيد موجود في الأنسجة هو GM3، الذي يحوي السيراميد، وجزيء جلوكوز واحد، وجزيء جالاكتوز واحد، وجزيء واحد من حمض نورأمينيك. وفي التسمية المختصرة المستخدمة، يمثل G الجنجليوزيد، وM هي الأنواع التي تحوي حمضاً سيالياً وحيداً؛ أما الرقم السفلي 3 فهو عدد يتحدد بناء على سلوك المركب خلال عملية الهجرة بطريقة الاستشراب. أما بنية الجَنجليوزيد G_{M1} فهي أكثر تعقيداً ومشتقه من G_{M3} ومعروضة في (الشكل 16-19). و G_{M1} مركب على قدر كبير من الأهمية الحيوية حيث من المعروف أنه يعمل كمستقبل لذيفان الكوليرا في أمعاء

الإنسان. ويمكن أن تحوي الجنجليوزيدات الأخرى في أماكن أخرى من جزيء واحد إلى خمس جزيئات من حمض السياليك فتؤدي إلى تشكيل الجنجليوزيدات ثنائية وثلاثية السياليك وهكذا.



الشكل 18-16: بنية الجالاكتوزيل سيراميد (جالاكتوسيريبروزيد، $H=R$)، وسلفو جالاكتوزيل سيراميد (سلفاتيد، $R=SO_4^{2-}$)

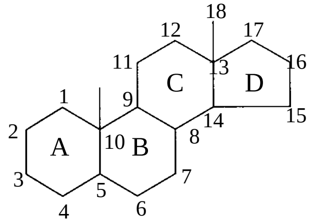


الشكل 19-16: الجنجليوزيد GM_1، أي جنجليوزيد أحادي السياليك، وهو مستقبل لذيفان الكوليرا في أمعاء الإنسان.

تلعب الستيرويدات أدواراً فيزيولوجية مهمة متعددة:

الكوليسترول هو على الأرجح الستيرويد الأكثر شهرة بسبب علاقته بالتصلب العصيدي (Atherosclerosis). غير أنه، فهو من الناحية الكيميائية الحيوية مهم أيضاً لأنه طليعة لعدد كبير من الستيرويدات المساوية له في الأهمية والتي تضم الأحماض الصفراوية وهرمونات قشر الكظر والهرمونات الجنسية ومجموعة الڤيتامين D والجليكوزيدات القلبية وسيتوستيرولات المملكة النباتية وبعض القلوانيات.

تمتلك جميع الستيرويدات نواة حلقية متماثلة تشبه الفينانترين (الحلقات A و B و C) مرتبطة بها حلقة السيكلوبنتان (D). ويعرض الشكل 16-20 ترقيم مواقع ذرات الكربون في نواة الستيرويد. ومن المهم أن ندرك أنه في الصيغ البنيوية للستيرويدات تعني الحلقة السداسية البسيطة أنها حلقة سداسية الكربون ومشبعة تماماً بروابط هيدروجينية، إن لم تكن معروضة بطريقة أخرى، أي أنها ليست حلقة البنزين، أما في حال وجود روابط مضاعفة فإنها تكون مبينة كلها بحد ذاتها في مواقعها. وتكون السلاسل الميثيلية الجانبية مبينة كروابط أحادية غير متصلة بالنهاية الأخيرة (الميثيل الأبعد) ويوجد هذا على نحو نمودجي في المواقع 10و 13 (التي تشكل ذرات الكربون 19 و 18). ويكون وجود سلسلة جانبية في الموقع 17 أمراً اعتيادياً (كما في الكوليسترول). وإذا احتوى المركب زمرة هدروكسيل واحدة أو أكثر، دون وجود زمر الكربوكسيل أو الكربونيل، فهو يكون عندئذ ستيرولاً (Sterol)، وينتهي اسمه باللاحقة (أُول)، (-OL).

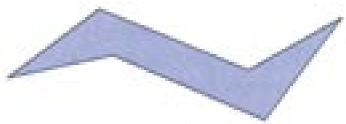


الشكل 16-20: النواة الستيرويدية.

من المحتمل وجود العديد من المصاوغات الفراغية لجزيء الستيرويد بسبب اللاتناظر فيها:

إن كل حلقة من الحلقات سداسية الكربون في نواة الستيرويد قادرة على التواجد في هيئة ثلاثية الأبعاد إما بشكل كرسي أو إما بشكل قارب (الشكل 16-21). وفي الواقع تكون كل الحلقات في الستيرويدات الموجودة طبيعياً على شكل الكرسي، وهي الهيئة الأكثر استقراراً. ويمكن أن تكون الحلقات إما مقرونة أو إما مفروقة بالنسبة لبعضها بعضاً (الشكل 16-22).

يمكن أن يكون الاتصال بين الحلقتين A و B إما مقروناً أو مفروقاً في الستيرويدات الطبيعية. أما الاتصال بين B و C فهو مفروق وبين C/D يكون مفروقاً أيضاً باستثناء الجليكوزيدات القلبية وسموم العلجوم (ضفدع الطين). ويتم إظهار الروابط التي تربط الزمر البديلة فوق مستوى الحلقات بخطوط متصلة غامقة (β)، أما تلك الروابط التي تربط الزمر تحت مستوى الحلقات فيشار إليها بخطوط متقطعة (α). وتكون الحلقة A من الستيرويد 5α بوضع مفروق دائماً بالنسبة للحلقة B، في حين تكون بوضع مقرون في الستيرويد 5α. وتكون زمر الميثيل المرتبطة بـ C10 و C13 في الشكل β بشكل ثابت.

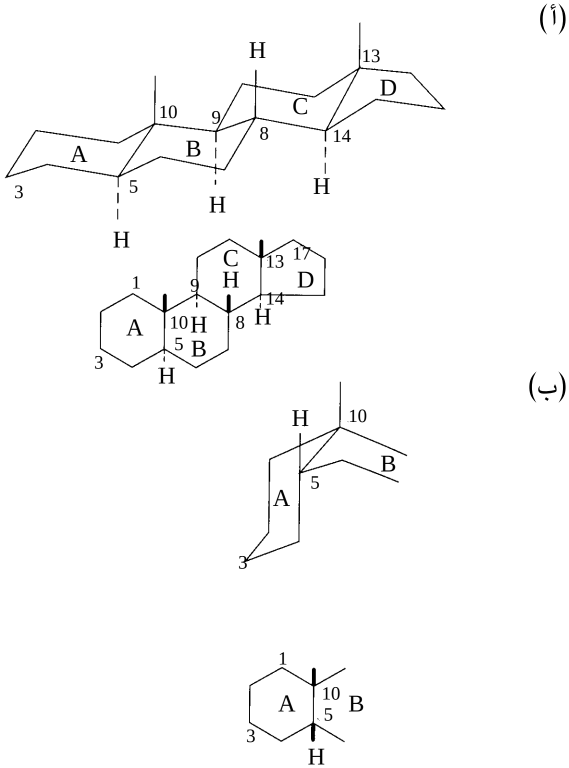


شكل الكرسي



شكل القارب

الشكل 16-21: هيئات المصاوغات الفراغية للنواة الستيرويدية.



الشكل 16-22: النوى الستيرويدية العامة، يبين (أ) هيئة all – مفروق بين الحلقات المتجاورة و (ب) الهيئة المقرونة بين الحلقات «أ» و «ب» .

الكوليسترول هو مكون مهم في العديد من الأنسجة:

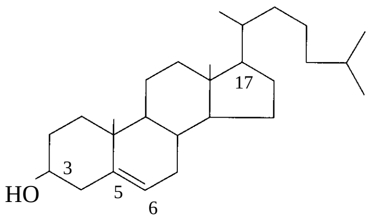
ينتشر الكوليسترول (الشكل 16-23) بشكل واسع في جميع خلايا الجسم، وبخاصة في النسيج العصبي. وهو يعد مكوناً أساسياً في الغشاء البلازمي وفي البروتينات الشحمية بالبلازما. وغالباً ما يوجد على شكل إستر الكولستريل (Cholester ester)، الذي ينتج عن إسترة زمرة الهيدركسيل في الموقع 3 بحمض دهني طويل السلسلة. ويوجد الكوليسترول في الدهون الحيوانية ولا يوجد في الدهون النباتية.

الإرجوستيرول هو طليعة ڤيتامين D:

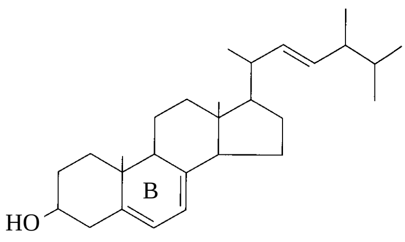
يوجد الارجوستيرول في النباتات والخميرة وهو مهم كونه طليعة ڤيتامين D (الشكل 16-24). وعندما يتم التعرض للتشعيع بالضوء فوق البنفسجي، فإنه يكتسب خواصاً مضادة للرخد (Antirachitic) نتيجة انفتاح الحلقة B فيه (الشكل 53-6).

يوجد الكوبروستيرول في البراز:

يوجد الكوبروستيرول (الكوبروستانول) في البراز كناتج عن إرجاع الرابطة المضاعفة بين C5و C6 في الكوليسترول بتأثير جراثيم الأمعاء.



الشكل 16-23: الكوليسترول، 3 – هيدروكسي – 5 ، 6 كولستين.



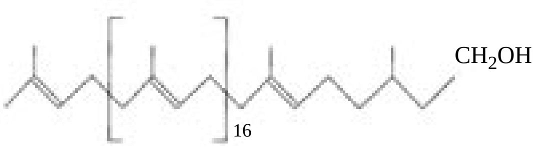
الشكل 16-24: الإرجوستيرول.

تتشارك عديدات البرينويد والكوليستيرول بالمركب الأصلي ذاته:

على الرغم من أن عديدات البرينويد ليست ستيرويدات، إلا أنها مركبات قريبة منها لأنها يتم تخليقها على غرار الكوليسترول (الشكل 28-2)، من وحدات الإيزوبرين خماسية الكربون (الشكل 16-25). وهي تضم اليوبيكينون (Ubiquinone) (الفصل 14)، وهو عنصر في السلسلة التنفسية بالمتقدرات، والدوليكول (Dolicol) وهو كحول طويل السلسلة (الشكل 16-26) يلعب دوراً في تخليق البروتينات السكرية عن طريق نقل الثمالات السكرية إلى ثمالات الأسبارجين في عديد الببتيد (الفصل 56). وتتضمن المركبات عديدة البرينويد المشتقة من النباتات كل من المطاط والكافور والڤيتامينات الذوابة في الدهون A وD وE و K و β– كاروتين (طليعة ڤيتامين A).

$$\begin{array}{c} \qquad CH_3 \\ \qquad | \\ —CH=C—CH=CH— \end{array}$$

الشكل 16-25: وحدة الأيزوبرين.



الشكل 16-26: الدوليكول ـ وهو كحول من 95 ذرة كربون.

الأكسدة الفائقة للشحميات هي مصدر للجذور الحرة:

إن الأكسدة الفائقة (Peroxidation) (الأكسدة الذاتية auto-oxidation) للشحميات التي تتعرض للأكسجين هي المسؤولة ليس فقط عن تردي الأطعمة (الزنخ Rancidity) بل وأيضاً عن تضرر الأنسجة الحية (في الأحياء)، حيث قد تسبب السرطان، والأمراض الالتهابية، وتصلب الشرايين والشيخوخة (Aging) وغيرها. وتجمع الدراسات على أن هذه التاثيرات المؤذية تنجم عن الجذور الحرة (Free radicals)؛ ($ROO^•$, $RO^•$, $OH^•$) الناتجة في أثناء تشكل البيروكسيد من الأحماض الدهنية الحاوية روابط مضاعفة مقطوعة بالمثيلين، أي تلك الروابط الموجودة في الأحماض الدهنية الطبيعية متعددة اللا إشباع (الشكل 16-27). والأكسدة الفائقة للشحميات هي سلسلة من التفاعلات توفر بشكل متواصل الجذور الحرة التي تؤدي لحدوث تفاعلات أكسدة فائقة إضافية. ويمكن تصور كامل العملية على الشكل التالي:

(1) الابتداء (Initiation):

$$ROOH + \text{معدن}^{(n)} \longrightarrow ROO^• + \text{معدن}^{(1-n)} + H^+$$

$$X^• + RH \longrightarrow R^• + XH$$

(2) الانتشار (Propagation):

$$R^• + O2 \longrightarrow ROO^•$$

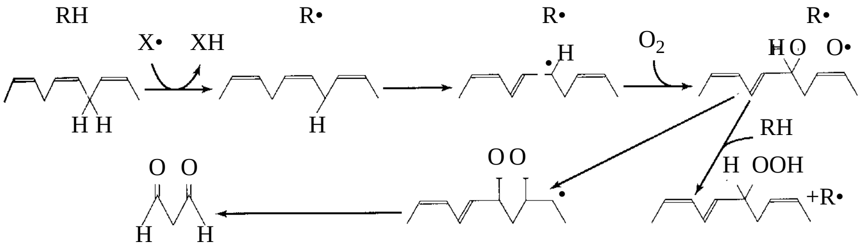
$$ROO^• + RH \longrightarrow ROOH + R^•$$ وهكذا ,

(3) الانتهاء (Termination):

$$ROO^• + ROO^• \longrightarrow ROOR + O_2$$

$$ROO^• + R^• \longrightarrow ROOR$$

$$R^• + R^• \longrightarrow RR$$



الشكل 16-27: الأكسدة الفائقة للشحميات. يبدأ التفاعل عند وجود الجذر الحر (X·)، عن الأشعة أو من الأيونات المعدنية. يتشكل المالون ثنائي ألدهيد (MDA) فقط من الأحماض الدهنية ذات ثلاث روابط مضاعفة أو أكثر وهو يستخدم لقياس درجة الأكسدة الفائقة للشحميات إلى جانب الإيثان من الكربونين الطرفيين للأحماض الدهنية ω6.

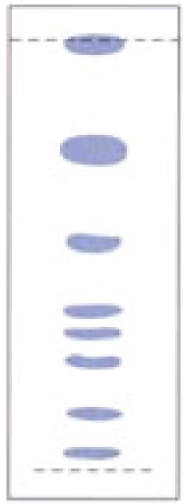
ونظراً لأن الطليعة الجزيئية لعملية البدء تكون بشكل عام الناتج الهيدروبيروكسيدي ROOH، فإن الأكسدة الفائقة للشحميات هي تفاعل متسلسل ذو تأثيرات مخربة وكامنة. ويلجأ الإنسان من خلال فعالياته والطبيعة إلى استخدام مضادات التأكسد (Antioxidants) من أجل السيطرة على تفاعلات الأكسدة الفائقة للشحميات وإنقاصها. وتستخدم مضادات التأكسد: بروبيل الجالات وهيدروكسي إنيزول البوتيلي (BHA) وهيدركسي التولوين البوتيلي (BHT) كمضافات غذائية. وتضم مضادات التأكسد الموجودة في الطبيعة كلاً من ڤيتامين E (توكوفيرول) وهو ذواب في الدهن، واليورات (بولات) وڤيتامين C وهما ذوابان في الماء. أما β – كاروتين فهي مضاد تأكسد فعال عند الضغط المنخفض من الأكسجين PO_2. وتصنف مضادات التأكسد ضمن صفين: (1) مضادات التأكسد الواقية، التي تنقص معدل بدء سلسلة التفاعلات، و (2) مضادات التأكسد المحطمة لسلسلة

التفاعلات، التي تعيق انتشار سلسلة التفاعلات. تضم مضادات التأكسد الواقية كلاً من الكاتالاز وإنزيمات البيروكسيداز الأخرى، التي تتفاعل مع ROOH ومستخلبات (Chelators) الأيونات المعدنية مثل DTPA (ثنائي الإيثيلين ثلاثي أمين خماسي الأسيتات) وEDTA (إيثيلين ثنائي الأمين ـ رباعي الأسيتات). وغالباً ما تكون مضادات التأكسد المحطمة للسلسلة فينولات أو أمينات أروماتية.

ومن مضادات التأكسد المحطمة للسلسلة الأساسية في الأحياء: دسميوتاز فوق الأكسيدي الذي يعمل في الطور المائي على قنص الجذور الحرة فوق الأكاسيد ($O^{\cdot}2^{-}$)؛ وربما اليورات؛ والڤيتامين E الذي يعمل في الطور الشحمي على قنص جذور ROOT (الشكل 53-9). وتتحفز الأكسدة الفائقة في الأحياء أيضاً بوساطة مركبات الهيم وبإنزيمات الأكسيجيناز الشحمية الموجودة في الصفيحات والكريات البيض وغيرها.

تفصل الطرق الاستشرابية الشحميات وتتعرف عليها:

لقد أخذت الآن طرائق الاستشراب تحل وبشكل واسع مكان الطرق القديمة الخاصة بفصل وتحديد هوية الشحميات والتي كانت تعتمد على الإجراءات الكيميائية التقليدية كالبَلْورة والتقطير والاستخلاص بالمذيبات. وتعد طريقة الاستشراب على الطبقة الرقيقة (TLC) (الشكل 28) مفيدة على نحو خاص في فصل الصفوف المختلفة من الشحميات، أما لفصل الأحماض الدهنية فردياً فإن طريقة الاستشراب في الطورين الغازي والسائلي (GLC) هي المفيدة. ويجب استخلاص الشحميات بجملة مذيبة أساسها عادة مزيجاً من الكلوروفورم والميثانول (1:2) وذلك قبل تطبيق هذه الطرائق على أنسجة رطبة.



الشكل 16-28: فصل صفوف الشحميات الرئيسة بالاستشراب في الطبقة الرقيقة. حيث أن أفضل جملة مذيبة لهذا الفصل هو مزيج هكسان ـ ثنائي إيثيل الأيثر ـ حمض الفورميك (80: 20: 2 V/V/V)

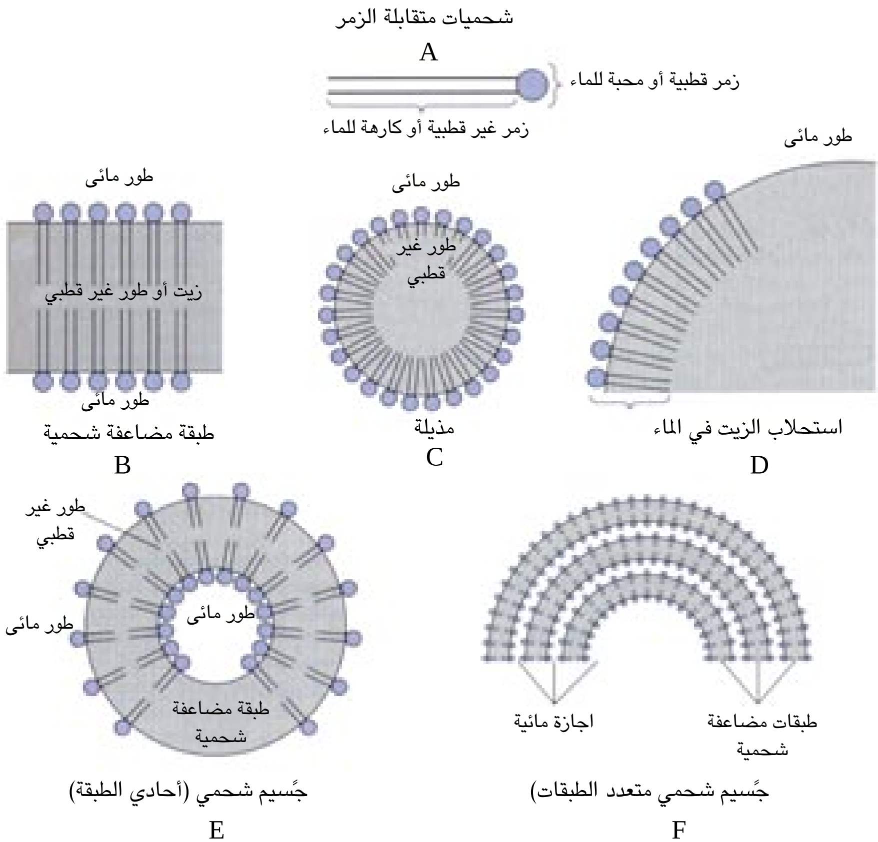
تتوجه الشحميات الأمفيباتية ذاتياً نحو السطوح الفاصلة بين الزيت والماء:

هي تشكل الأغشية والمذيلات والجسيمات الشحمية والمستحلبات:

تكون الشحميات بشكل عام، غير ذوابة في الماء، لأنها تحوي زمراً لا قطبية (هيدروكربونية) سائدة فيها.ومع ذلك فإن الأحماض الدهنية والشحميات الفسفورية والشحميات السفينجولية والأملاح الصفراوية، وبدرجة أقل، الكوليسترول، تحوي زمراً قطبية.

لذلك، فإن جزءاً من الجزيء يكون كارهاً للماء، أو غير ذواب في الماء وجزءاً آخر يكون محباً للماء، أو ذواباً في الماء وتوصف مثل هذه الجزيئات بأنها متقابلة الزمر

(أمفيباتية) (Amphipathic) (الشكل 16-29). وبذلك فهي تصبح متجهة نحو السطوح الفاصلة بين الماء والزيت، بحيث تكون الزمرة القطبية واقعة في الطور المائي، والزمرة اللاقطبية في الطور الزيتي. ولقد عدت الطبقة الثنائية المتكونة من مثل هذه الشحميات متقابلة الزمر كبنية أساسية في الأغشية الحيوية (الفصل 43).



الشكل 16-29: تشكيل الأغشية الشحمية والمذيلات والمستحلبات والجسيمات الشحمية من الشحميات متقابلة الزمر، كالشحميات الفسفورية.

وعندما يوجد تركيز حرج (مرتفع) من هذه الشحميات في الوسط المائي، فهي تشكل المذيلات (Micelles). ويعد تكدس الأملاح الصفراوية في المذيلات والجسيمات الشحمية، وكذلك تشكل مذيلات ممزوجة بنواتج هضم الدهون أمراً مهماً في تسهيل امتصاص الشحميات من الأمعاء. وقد تتشكل الجسيمات الشحمية (Liposomes) بتعريض شحم أمفيباتي لأمواج فائقة الصوت (الصَوْتنة Sonication) في وسط مائي وهي تتألف من كريات ثنائية الطبقة الشحمية تحوي بداخلها جزءاً من الوسط المائي. وهي مهمة في الاستخدام السريري، بخاصة عندما تكون مرتبطة مع أضداد نوعية للنسيج كحوامل للأدوية في الدم، لتستهدف أعضاء معينة، كما هو الحال عند معالجة السرطان. إضافة إلى ذلك، فلقد استعملت الجسيمات الشحمية لنقل الجينات (المورثات) إلى الخلايا الوعائية وكحوامل من أجل إطلاق الأدوية والمزوقات (مستحضرات التجميل) موضعياً وعبر الجلد. وتكون المستحلبات (Emulsions) جسيمات أكبر بكثير من السابقة، وهي تتشكل عادة من شحميات لا قطبية في وسط مائي. وهي تكون مستقرة بوساطة عوامل استحلابية كالشحميات متقابلة الزمر (مثل اللسيثين)، التي تشكل طبقة سطحية تفصل الكتلة الرئيسية من المادة اللاقطبية عن الطور المائي (الشكل 16-29).

الخلاصة:

1 – تملك الشحميات خاصية مشتركة كونها غير ذوابة نسبياً في الماء (كارهة للماء) لكنها ذوابة في المذيبات اللاقطبية. ومع هذا، تحوي الشحميات متقابلة الزمر أيضاً، زمرةً قطبية واحدة أو أكثر، مما يجعلها ملائمة بشكل خاص كمكونات للأغشية على السطوح الفاصلة بين الشحم والماء.

2 – الأحماض الدهنية وإستراتها هي الشحميات ذات الأهمية الفيزيولوجية الرئيسية، إلى جانب الكوليسترول والستيرويدات الأخرى.

3 – قد تكون الأحماض الدهنية طويلة السلسلة مشبعة، أو أحادية اللاإشباع، أو متعددة اللاإشباع، بحسب عدد الروابط المضاعفة الموجودة. وتتناقص سائليتها مع طول السلسلة وتزداد تبعاً لدرجة اللاإشباع.

4 – تتشكل الإيكوزانويدات من أحماض دهنية متعددة اللاإشباع فيها 20 ذرة كربون، وهي تؤلف مجموعة مهمة من المركبات الفعالة دوائياً وفيزيولوجيا تُعرف بالبروستاجلاندينات والثرومبوكسانات واللوكوترينات والليبوكسينات.

5 – إسترات الجليسرول هي أكثر الشحميات أهمية من الناحية الكمية، ويمثلها ثلاثي أسيل الجليسرول (الدهن) المركب المهم كمكون رئيسي في البروتينات الشحمية وكصيغة تخزينية للشحوم في النسيج الشحمي. ومركبات فسفو أسيل الجليسرول هي شحميات متقابلة الزمر تلعب أدواراً متعددة ومهمة، مثل كونها مكونات رئيسية في الأغشية والطبقة الخارجية للبروتينات الشحمية، وكعوامل فعالة بالسطح في الرئة، وكطلائع للمراسيل الثانية، وكمكونات مهمة في النسيج العصبي.

6 – الشحميات السكرية مكونات مهمة أيضاً في النسيج العصبي كالدماغ والوريقة الخارجية من الغشاء الخلوي، حيث تسهم بالسكريات الموجودة على سطح الخلية.

7 – الكوليسترول هو شحم أمفيباتي (متقابل الزمر) ومكون مهم في الأغشية. وهو جزيء طليع يصنع منه باقي الستيرويدات الأخرى في الجسم. وهي تضم الهرمونات الرئيسية مثل الهرمونات الجنسية وهرمونات قشر الكظر والڤيتامينات D والأحماض الصفراوية.

8 – تؤدي الأكسدة الفائقة للشحميات الحاوية أحماضاً دهنية متعددة اللاإشباع إلى توليد الجذور الحرة التي قد تخرب الأنسجة وتسبب الأمراض.

***References:**

Christie WW: *Lipid Analysis*, 2nd ed. Pergamon Press, 1982.

Cullis PR, Fenske DB, Hope MJ: Physical properties and functional roles of lipids in membranes. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes.* Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 1996.

Gunstone FD, Harwood JL, Padley FB: *The Lipid Handbook.* Chapman & Hall, 1986.

Gurr Ml, Harwood JL: *Lipid Biochemistry: An Introduction*, 4th ed. Chapman & Hall, 1991.

Krisky Nl: Mechanism of action of biological antioxidants. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992;200:248.

Porter NA, Caldwell SE, Mills KA: Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids* 1995;30:277.

Small DM: Lateral chainpacking in lipids and membranes. *J Lipid Res* 1984;25:1490.

الفصل السابع عشر

لمحة عامة عن الأيض المتوسط

Overview of intermediary Metabolism

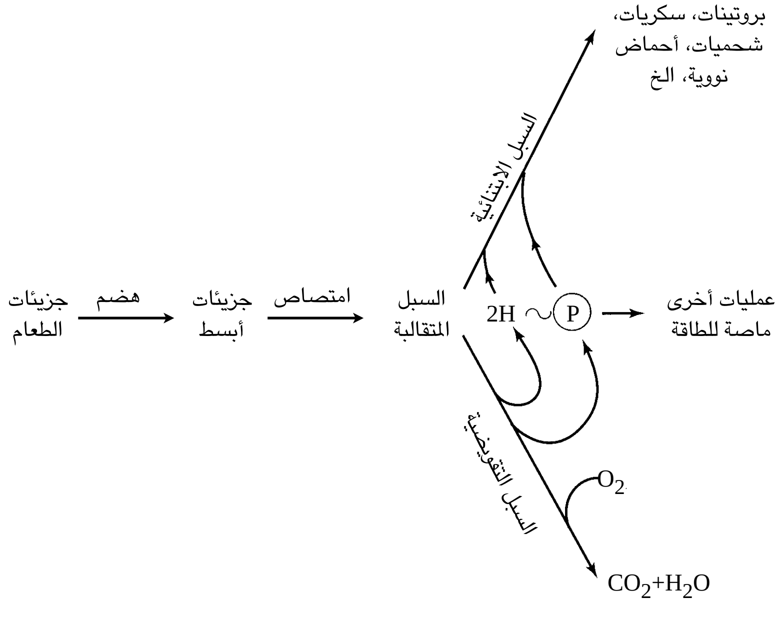
مقدمة:

يشكل مصير المكونات الغذائية بعد الهضم والامتصاص ما يدعى بالأيض المتوسط. وبالتالي فهو يشمل مجالاً واسعاً لا تقتصر غايته على وصف السبل الأيضية التي تسلكها الجزيئات كل على حدة فقط، بل يحاول أيضاً فهم العلاقات البينية لهذه السبل والآليات التي تنظم تدفق المتأيضات خلالها. وتقسم السبل الأيضية إلى ثلاث مجموعات (الشكل 17-1): (1) سبل الابتناء وهي تلك التي تساهم في تخليق المركبات المكونة لبنية الجسم وآلياته، وكمثال عنها سبيل تخليق البروتين. وتأتي الطاقة الحرة اللازمة لهذه العمليات من سبل المجموعة الثانية. (2) سبل التقويض وهي تضم العمليات التأكسدية التي تحرر الطاقة الحرة عادة على شكل فسفات عالية الطاقة أو مكافئات مرجعة، مثل السلسلة التنفسية والفسفتة التأكسدية. (3) السبل المتقالبة (Amphibolic pathways) والتي لها أكثر من وظيفة وهي تحدث عند نقاط تقاطع (أو مفترق) المسالك الأيضية وتعمل كصلات وصل بين مسالك الابتناء والتقويض، مثل دورة حمض السيتريك.

الأهمية الطبية البيولوجية:

إن معرفة الأيض عند الحيوان السوي هي شرط أساسي للفهم الصحيح

والدقيق للأيض غير السوي المستبطن (Underlying) للعديد من الأمراض. ويتضمن الأيض السوي الاختلافات والتلاؤم في الأيض، والناجمة عن فترات الجوع والتمارين والإرضاع. وينتج الأيض غير السوي، على سبيل المثال، عن عوز تغذوي أو عوز إنزيمي أو إفراز غير سوي للهرمونات ينجم غالباً عن وجود مرض وراثي. والمثال المهم عن مرض ناجم عن أيض غير سوي (مرض أيضي) هو الداء السكري (Diabetes mellitus).

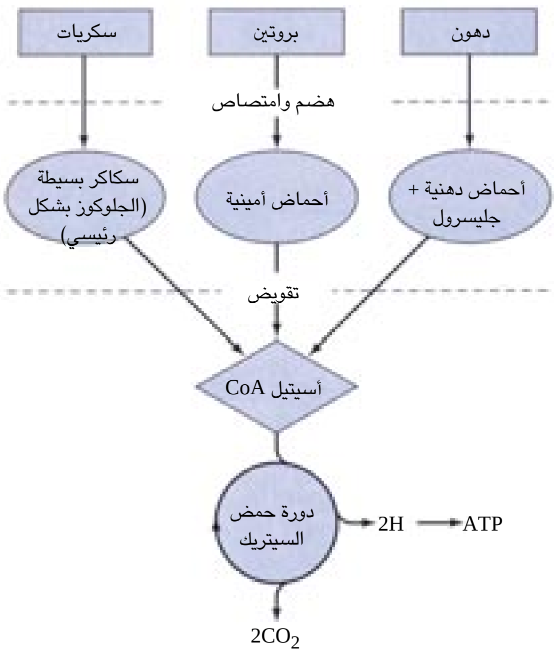


الشكل 17-1: الفئات الثلاثة الرئيسة للسبل الأيضية. تحرر سبل التقويض الطاقة الحرة في شكل مكافئات مرجعة (H_2) أو كفسفات عالية الطاقة (P)~ لتأمين جريان السبل الابتنائية. وتعمل السبل المتقالبة كصلة وصلٍ بين الفئتين الأخريين من السبل.

تقدم السبل الأيضية الأساسية النواتج الرئيسة للهضم:

إن طبيعة الغذاء هي التي تحدد الطراز الأساسي للأيض في الأنسجة. فالثدييات كالإنسان تحتاج لمعالجة النواتج الممتصة من هضم السكريات والشحميات

والبـروتينات في الغـذاء، وهي بشكل رئيـسي الجلوكـوز والأحـمـاض الدهـنيـة مع الجليـسـرول والأحـمـاض الأمـينيـة على التـرتيب. ويهـضـم السـيليلوز القـوتـي عند المجترات (وبدرجة أقل عند الحيوانات العاشبة الأخرى) بواسطة الأحياء المجهرية المتـعايشـة فتتشكل أحمـاض دهنية صـغيـرة (أحمـاض الأسيـتيك والبـروبيـونيك والبيوتيريك)، ويكون الأيض النسيجي عند هذه الحيوانات متلائماً مع استعمال هذه الأحماض الدهنية الصغيرة كركائز أسـاسية. وتعالج كافة نواتج الهضم هذه بسبل أيضية خاصة بها لتعطي ناتجاً مشتركاً هو أسيتيل التميم A (Acety -CoA) الذي يؤكسد بعد ذلك بشكل تام في دورة حمض السيتريك (الشكل 17-2).



الشكل 17-2: مخطط لسبل تقويض الدهون والبروتينات والسكريات الغذائية. تؤدي كافة السبل إلى إنتاج أسيتيل -CoA، الذي يتأكسد في دورة حمض السيتريك، ليعطي في النهاية الـ ATP في عملية الفسفتة التأكسدية.

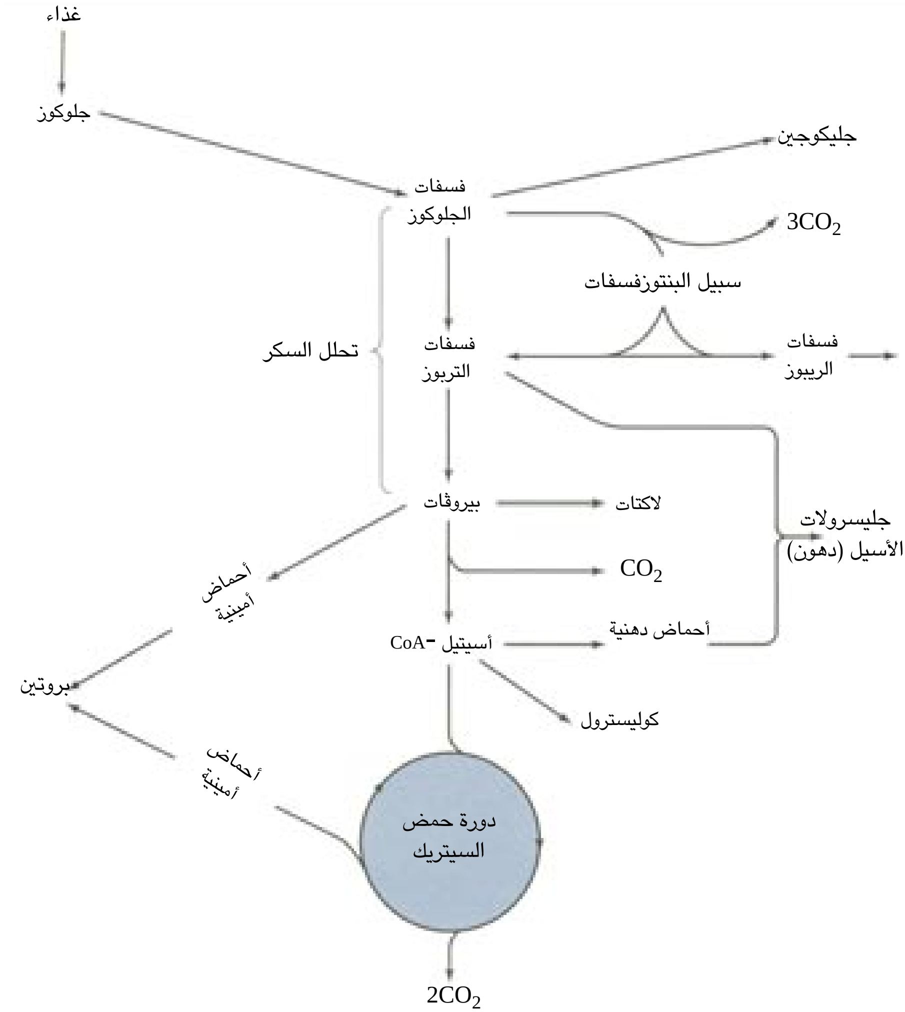
يتمحور أيض السكريات حول توفير الجلوكوز ومصيره (الشكل 17-3):

يتأيض الجلوكوز إلى البيروفات واللاكتات في جميع خلايا الثدييات عن طريق سبيل تحلل السكر (Glycolysis) والجلوكوز ركيزة فريدة لأنها يمكن أن تتحلل في غياب الأكسجين (لا هوائي) حيث الناتج النهائي هنا هو اللاكتات.

ومع ذلك، فإن الأنسجة التي تستطيع استعمال الأكسجين (الهوائية) قادرة أيضاً على أيض البيروفات إلى أسيتيل CoA، الذي يمكن أن يدخل إلى دورة حمض السيتريك ليتأكسد بشكل كامل إلى CO_2 و H_2O مع تحرير الكثير من الطاقة الحرة على شكل ATP ضمن عملية الفسفتة التأكسدية (الشكل 18-2).

لذلك فالجلوكوز وقود رئيس للعديد من الأنسجة لكنه (مع بعض من نواتج أيضية) له دور في عمليات أخرى، مثل: (1) التحول إلى مكثوره الادخاري الجليكوجين (Glycogen)، بخاصة في العضلات الهيكلية والكبد، (2) سبيل فسفات البنتوز، الذي ينشأ من متوسطات سبيل تحلل السكر. وهو مصدر للمكافئات المرجعة (2H) من أجل عمليات التخليق الحيوي، مثل تخليق الأحماض الدهنية ـ وهو أيضاً مصدر للريبوز ذلك العنصر المهم بتشكيل الأحماض النووية والنوكليوتيدات، (3) يعطي فسفات التريوز هيكل الجليسرول في مركبات أسيل الجليسرول (الدهن)، (4) تقوم البيروفات ومتوسطات دورة حمض السيتريك بتوفير الهياكل الكربونية لتخليق الأحماض الأمينية، وكذلك أسيتيل CoA وهو اللبنة الأساسية لبناء الأحماض الدهنية طويلة السلسلة والكوليسترول طليعة كافة الستيرويدات التي يجري تخليقها في الجسم.

أما استحداث السكر (Gluconeogenesis) فهي العملية التي تنتج الجلوكوز من طلائع غير سكرية (الكربوهيدراتية) مثل اللاكتات والأحماض الأمينية والجليسرول.



الشكل 3-17: نظرة شاملة لأيض السكريات تبين السبل الرئيسة والنواتج النهائية. لم يعرض هنا سبيل استحداث السكر.

يتعلق أيض الشحميات بالدرجة الأولى بالأحماض الدهنية والكولسترول (الشكل 17-4):

إن مصدر الأحماض الدهنية طويلة السلسلة هو إما من الدهون في الغذاء أو بالتخليق داخل الجسم بدءاً من أسيتيل CoA المشتق من السكريات. وقد تؤكسد الأحماض الدهنية في الأنسجة إلى أسيتيل CoA (الأكسدة البتائية β) أو أن تؤستر إلى مركبات أسيل الجليسرول التي ـ مثل ثلاثي أسيل الجليسرول ـ تشكل المدخر الرئيس للسعرات الحرارية في الجسم. ويكون لأسيتيل CoAالمتشكل من الأكسدة البتائية عدة مصائر مهمة.

1– كما في حالة الأسيتيل CoA المشتق من السكريات، فهو يؤكسد بشكل كامل إلى CO_2 و H_2O عن طريق دورة حمض السيتريك. وتعطي الأحماض الدهنية طاقة كبيرة عن طريق الأكسدة البتائية ودورة حمض السيتريك على حد سواء وهي بذلك تعد وقوداً نسيجياً فعالاً جداً.

2 – هو مصدر لذرات الكربون في الكوليسترول والستيرويدات الأخرى.

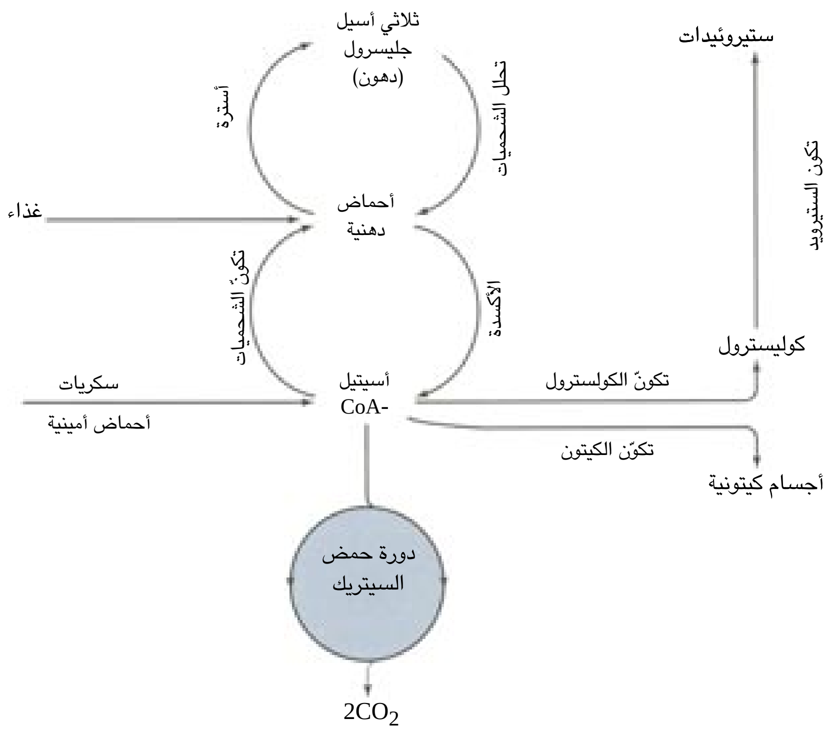
3 – هو يشكل في الكبد الأجسام الكيتونية (الأسيتون وأسيتوأسيتات و 3– هدركسي بوتيرات) التي تعد وقوداً نسيجياً بديلاً ذواباً في الماء وتصبح مصادر مهمة للطاقة في بعض الظروف (مثل، الجوع).

يتضمن أيض الكثير من الأحماض الأمينية عملية نقل الأمين (الشكل 17-5):

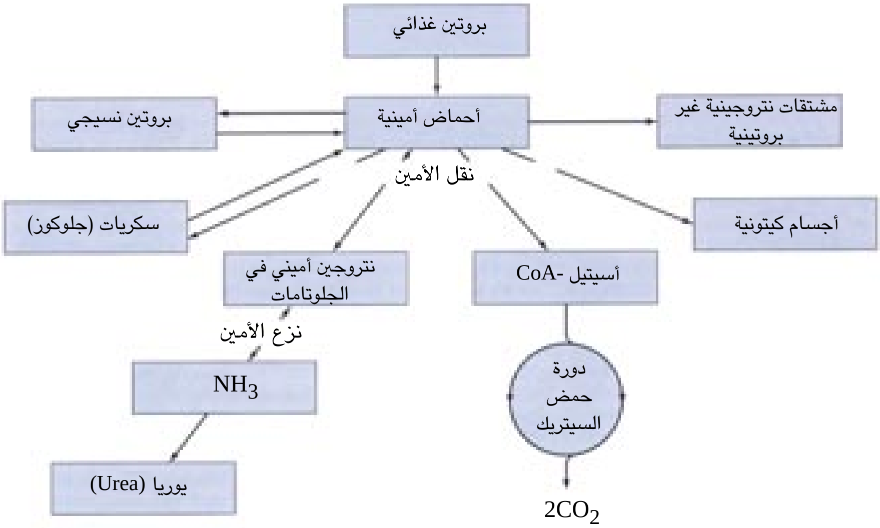
إن الأحماض الأمينية ضرورية لتخليق البروتين. ويجب تأمين بعضها على نحو خاص في الغذاء (وهي الأحماض الأمينية الأساسية) (Essential amino acids)، لأن الأنسجة غير قادرة على تخليقها. أما الباقية أو الأحماض الأمينية اللاأساسية فهي تؤمن أيضاً من الغذاء، لكن يمكن صنعها أيضاً من المتوسطات عن طريق نقل الأمين (Transamination) باستخدام النتروجين الأميني الوارد من الأحماض الأمينية الفائضة الأخرى. ويجري بعد نزع الأمين (Deamination) إزالة النتروجين الأميني

الزائد على شكل يوريا (Urea)، أما الهياكل الكربونية المتبقية بعد نقل الأمين فهي إما أن (1) تؤكسد إلى CO_2 و H_2O عن طريق حلقة حمض السيتريك، أو (2) تشكل الجلوكوز (باستحداث السكر)، أو (3) تشكل الأجسام الكيتونية.

بالإضافة إلى أن التخليق البروتيني يعتمد عليها، فالأحماض الأمينية هي أيضاً طلائع للعديد من المركبات المهمة، مثل الإبينفرين والثيروكسين.



الشكل 17-4: لمحة عامة لأيض الأحماض الدهنية تبين السبل الرئيسة والنواتج النهائية. تضم الأجسام الكيتونية المواد: الأسيتو أسيتات و 3 – هيدروكسي بوتيرات والأسيتون.



الشكل 17-5: نظرة عامة على أيض الأحماض الأمينية تبين السبل الرئيسية والنواتج النهائية.

يمكن دراسة السبل الأيضية عند مستويات مختلفة من التنظيم:

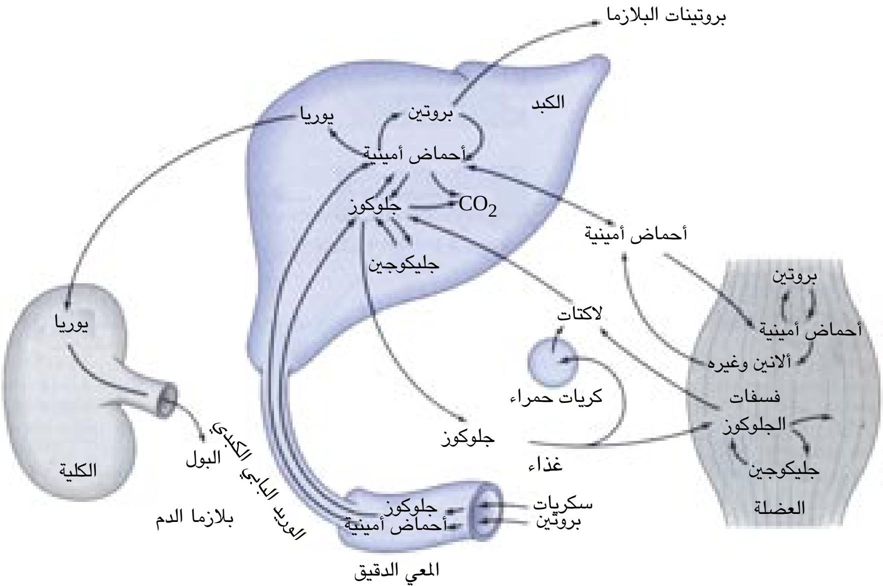
لقد كنا حتى الآن ننظر إلى الأيض كما هو يحدث في كامل الكائن الحي. وتم تحديد مواقع السبل الأيضية وتكاملها بالدراسات التي أجريت عند مستويات منخفضة من التنظيم، وهي: (1) عند المستوى النسيجي والعضوي، حددت طبيعة الركائز الداخلة و ونواتج الأيضية المغادرة إلى ومن الأنسجة والأعضاء ووصفت كذلك المصائر الكاملة لهذه الركائز و ونواتج الأيضية. (2) عند المستوى دوَن الخلوي (Subcellular)، حيث يقوم كل عضو خلوي (مثل المتقدرة) أو كل حيز (مثل العصارة الخلوية: السيتوزول) بإنجاز أدوار كيميائية حيوية نوعية تشكل جزءاً من الطراز دُوَين الخلوي للسبل الأيضية.

تتكامل الدورة الدموية مع الأيض على المستوى النسيجي والعضوي:

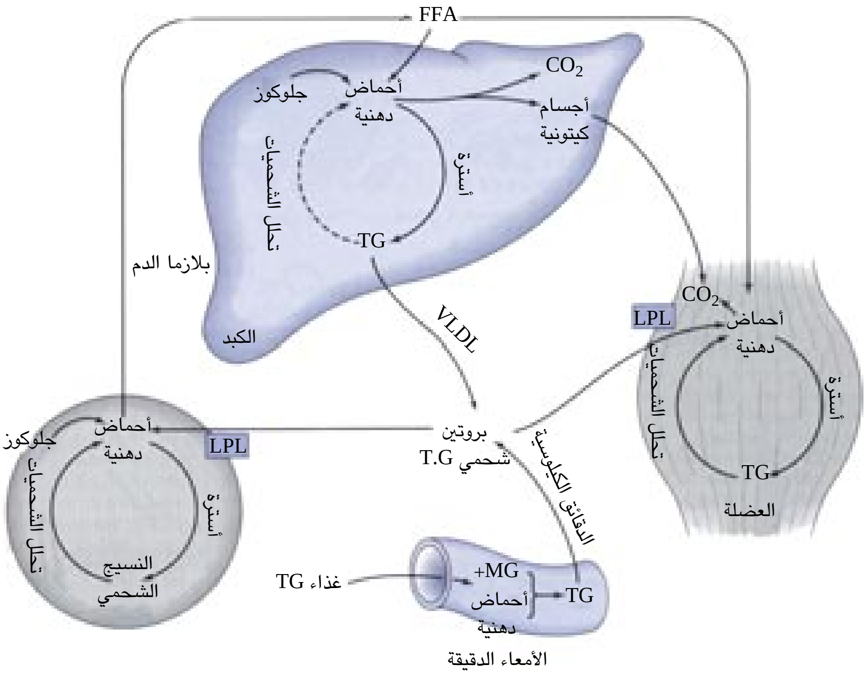
تشترك كل من الأحماض الأمينية الناتجة عن هضم البروتينات في الغذاء والجلوكوز الناجم عن هضم السكريات في طريق واحد مشترك للامتصاص عن طريق الوريد البابي الكبدي (Hepatic portal vein). وهذا يضمن بأن تتوجه نواتج الأيض الداخلة والمغادرة ونواتج الهضم الأخرى الذوابة في الماء بشكل أولي إلى الكبد (الشكل 17-6). ويمتلك الكبد الوظيفة الأيضية الرئيسة وهي تنظيم تركيز معظم النواتج الأيضية في الدم وبخاصة الجلوكوز والأحماض الأمينية. ففي حالة الجلوكوز، يتحقق ذلك بأخذ الجلوكوز الفائض وتحويله إلى الجليكوجين (تكون الجليكوجين Glycogenesis)، أو إلى الدهن (تكون الدهن Lipogenesis). ويستطيع الكبد، بين الوجبات، أن يسد النقص الحاصل في مستوى جلوكوز الدم اعتماداً على مخازنه من الجليكوجين (تحلل الجليكوجين Glycogenolysis)، أو، بالمشاركة مع الكلية، بأن يحول ونواتج الأيض غير الكربوهيدراتية (السكرية)، مثل اللاكتات والجليسرول والأحماض الأمينية إلى جلوكوز (استحداث السكر). وتعد المحافظة على تركيز كاف من الجلوكوز في الدم أمراً حياتياً لبعض الأنسجة التي يكون فيها الجلوكوز هو الوقود الوحيد (الحتمي)، مثل الدماغ والكريات الحمراء. كما يقوم الكبد بوظيفة أخرى هي تخليق بروتينات البلازما الرئيسة (مثل الألبومين)، ونزع الأمين من الأحماض الأمينية الزائدة عن الاحتياجات، مع تشكيل اليوريا، التي تنتقل عن طريق الدم إلى الكلية لتفرغ خارج الجسم. تستعمل العضلات الهيكلية الجلوكوز كوقود وتشكل كل من اللاكتات و CO_2. وهي تدخر الجليكوجين كوقود لاستخدامه في أثناء الإنقباض العضلي، وهي تخلق بروتينات عضلية بدءاً من الأحماض الأمينية البلازمية. وتشكل العضلات 50 ٪ تقريباً من كتلة الجسم، وبناء على ذلك فهي تمثل مخزناً كبيراً من البروتين الذي يمكن أن يعتمد عليه لتأمين الأحماض الأمينية للبلازما، وبخاصة خلال نقص الغذاء.

تتمثل الشحميات في الغذاء (الشكل 17-7) بشكل أساسي بثلاثي أسيل الجليسرول، الذي يعطي بعد الهضم مركبات أحادي أسيل الجليسرول والأحماض الدهنية. وتتحد هذه المركبات ثانية في الخلايا المعدية، وترتبط مع البروتين، ثم تفرز بشكل أساسي إلى الجملة اللمفية وبعد ذلك إلى الدوران على شكل بروتين شحمي

(Liporotein) يعـرف بالدقـيقـة الكيلوسـيـة (Chylomicron). وتشكل كـافـة نواتج الهضم الذوابة في الدسم الكارهة للماء، البروتينات الشحمية، التي تسهل نقلها بين الأنسجة في الوسط المائي ـ أي البلازما. وخلافاً للجلوكوز والأحماض الأمينية، لايُقبط ثلاثي أسيل الجليسرول الموجود في الدقائق الكيلوسية مباشرة من قبل الكبد. فهو يتأيض أولاً بالأنسجة خارج الكبد المحتوى علي إنزيم ليباز البروتين الشحمي (Lipoprotein lipase)، الذي يحلمه ثلاثي أسيل الجليسرول فتتحرر الأحماض الدهنية التي تنجبل ضمن الشحميات النسيجية أو تتأكسد كوقود. أما المصدر الرئيسي الآخر للحمض الدهني طويل السلسلة فهو تخليقه (تكون الشحم) من السكريات، بشكل أساسي في النسيج الشحمي والكبد.



الشكل 17-6: نقل ركائز السكريات والأحماض الأمينية والمستقلبات الرئيسة ومصائرها. لاحظ أنه يوجد القليل من الجلوكوز الحر في العضلة، لأنه يفسفت بسرعة حال دخوله إليها.



الشكل 17-7: نقل الركائز والمتأيضات الشحمية الرئيسة ومصائرها.(FFA: أحماض دهنية حرة، LPL: ليباز البروتين الشحمي، MG: أحادي أسيل الجليسرول، TG: ثلاثي أسيل الجليسرول، VLDL: البروتين الشحمي وضيع الكثافة).

ويعد ثلاثي أسيل جليسرول في النسيج الشحمي مخزن الوقود الأساسي في الجسم. وبعد حلمهته (تحلل الشحم Lipolysis)، تتحرر الأحماض الدهنية إلى الدوران كأحماض دهنية حرة. وتؤخذ هذه من قبل أغلب الأنسجة (عدا المخ والكريات الحمر) ثم تؤستر إلى أسيل الجليسرول أو تؤكسد كوقود أساسي إلى CO_2. وهناك سبيلان لهما أهمية إضافية يجريان في الكبد هما:

1 – إفـــراز الفـــائض من ثلاثي أســيل الجليـــســـرول الناشئ عن تحلل الشـــحم والأحـمـاض الدهـنيـة الحـرة إلى الدورة الدمـوية بشكل بروتين شـحـمي وضـيع الكثــافـــة (Very low density lipoprotein;VLDL) ويخـــضـع ثلاثي أســـيل الجليسرول هذا لمصير مشابه لمصير الدقائق الكيلوسية.

2 – الأكسدة الجـزئيـة للحـمض الدهني الحـر المؤدية إلى إنتاج الجـسم الكيتـوني (تكون الكيـتـون Ketogenesis) وتنقل الأجـسـام الكيـتـونيـة إلى الأنسـجـة خـارج الكبد، حيث تعمل كمصدر رئيس آخر للوقود.

يحدث تحلل السكر عند المستوى دُوَين الخلوي في العصارة الخلوية، ودورة حمض السيتريك في المتقدرات:

يعرض (الجدول 2-4) موجزاً عن الوظائف الكيميائية الحيوية الرئيسية للمكونات والعضيات دون الخلوية في الخلية. ومع ذلك، فإن معظم الخلايا تكون متخصصة بوظائفها وتميل إلى تثبيت بعض السبل الأيضية واستبعاد الأخرى. ويبين (الشكل 17-8) السبل الأيضية الرئيسية وتكاملها في خلية متنية (Parenchymal) كبدية، مع تأكيد خاص على موقعها داخل الخلية.

إن الدور الأساسي للمتقدرة واضح بلا ريب، لأنها تعمل كمحرق وكنقطة افتراق سبل أيض السكريات والشحميات والأحماض الأمينية. وهي تأوي بخاصة إنزيمات كل من دورة حمض السيتريك والسلسلة التنفسية وتخليق ATP والأكسدة البتائية للأحماض الدهنية وإنتاج الأجسام الكيتونية. وإضافة إلى ذلك، فهي نقطة تجميع للهياكل الكربونية العائدة للأحماض الأمينية بعد نقل الأمين، وهي تؤمن هذه الهياكل لتخليق الأحماض الأمينية اللاأساسية.

يحدث كل من تحلل السكر وسبيل فسفات البنتوز وتخليق الأحماض الدهنية في العـصـارة الخلوية. ومن الملاحظ أنه في اسـتـحـداث السكر، يجب أن تدخل إلى المتقدرة حتى تلك المواد التي تشكلت في العصارة الخلوية مثل اللاكتات والبيروفات لتشكل الأكسالوأسيتات (Oxaloacetate) قبل التحول إلى الجلوكوز.

تحوي أغشية الشبكة الهيولية الباطنية (Endoplasmic reticulum) الجملة الإنزيمية الخاصة بتخليق أسيل الجليسرول، وتكون الريباسات (Ribosomes) مسؤولة عن تخليق البروتين. لقد تم إدراك أن نقل ونواتج الأيضية المختلفة في الحجم والشحنة والذوبان خلال الأغشية التي تفصل العضيّات يتطلب آليات معقدة. ولقد نوقشت بعض منها من حيث علاقتها بالأغشية المتقدرية (الفصل 14)، وسوف تناقش الأخرى في الفصول التالية.

يجب تنظيم تدفق ونواتج الأيضية في السبل الأيضية بأسلوب متناسق:

يعد تنظيم التدفق الإجمالي من خلال السبيل الأيضي أمراً هاماً ليضمن، عند الحاجة، تزويداً مناسباً من النواتج الرئيسة لذلك السبيل. ويكون هذا التنظيم متعلقاً بضبط تفاعل أساسي واحد أو أكثر في السبيل والذي تحفزه الإنزيمات المنظمة (Regulatory enzymes) وتحظى العوامل الكيميائية والفيزيولوجية التي تتحكم بسرعة تفاعل ما محفز إنزيمياً، مثل تركيز الركيزة، بأهمية أساسية في التحكم بالسرعة الإجمالية لسبيل أيضي ما (الفصل 9). ومع هذا، فإن درجة الحرارة ودرجة الباهاء pH، هي عوامل يمكن أن تؤثر في فعالية الإنزيم، وهي تبقى ثابتة عند الفقاريات ذوات الدم الدافئ ولها دور تنظيمي قليل الأهمية. (ومع هذا، لاحظ الاختلاف بدرجة الباهاء pH في السبيل المعدي المعوي وتأثيراته في الهضم [الفصل 55]).

التفاعلات اللامتوازنة هي نقاط تحكم كامنة:

تحدث التفاعلات الأمامية (الإقبالية) والعكسية بمعدلات متساوية، في تفاعل ما عند التوازن، لذلك لا يوجد تدفق صاف في أي من الاتجاهين. ويكون العديد من التفاعلات في السبل الأيضية من هذا النمط، أي تفاعلات متوازنة.

$$A \longleftrightarrow B \longleftrightarrow C \longleftrightarrow D$$

أما في داخل الجسم (In vivo) وعند ظروف الحالة المستقرة، فقد يكون هناك تدفق صافي من اليسار إلى اليمين بسبب التزويد المستمر بـ A والإزالة المستمرة لـ D ويمكن لسبيل كهذا أن يقوم بوظيفته، لكن سيكون هناك مجال صغير للتحكم بالتدفق عن طريق تنظيم فعالية الإنزيم، لأن الزيادة في الفعالية ستستخدم فقط لتسريع الوصول للتوازن.

ويوجد عملياً وبشكل ثابت تفاعل واحد من النمط اللامتوازن أو أكثر في سبيل أيضي ما، حيث توجد المتفاعلات بتراكيز تكون بعيدة عن التوازن. وعند محاولة بلوغ التوازن يحدث ضياع كبير في الطاقة الحرة على شكل حرارة والتي لا يمكن إعادة استعمالها، مما يجعل هذا النمط من التفاعل غير عكسي بالضرورة، مثل:

$$A \longleftrightarrow B \xrightarrow{\text{حرارة}} C \longleftrightarrow D$$

يكون لمثل هذا السبيل تدفق واتجاه لكنه سيستنزف نفسه إذا لم يتم التحكم فيه. وتكون الإنزيمات التي تحفز التفاعلات اللامتوازنة بتركيز منخفض عادة، وخاضعة لآليات تحكم أخرى وهذا مشابه لفتح وإغلاق صمام وحيد الاتجاه، مما يتيح التحكم بالتدفق الصافي. ومع ذلك، فإنه من المهم إدراك أنه لا يمكن تصنيف معظم التفاعلات في السبل الأيضية بشكل صرف ضمن هاتين المجموعتين المتوازنة واللامتوازنة لكن في مكان ما بين هاتين المجموعتين.

التفاعل المولد للتدفق هو التفاعل الأول في سبيل ما يكون مشبعاً بالركيزة:

ويمكن تعريفه كتفاعل غير متوازن تكون فيه قيمة k_m للإنزيم أقل بكثير من التركيز السوي للركيزة. فالتفاعل الأول في سبيل تحلل السكر يُحفَّز بالهكسوكيناز (الشكل 19-2) في خطوة مولدة للتدفق لأن قيمة k_m من أجل الجلوكوز في هذا التفاعل تعادل 50.05 مول/ل وهي أقل بكثير من التركيز السوي للجلوكوز في الدم والبالغة 5 ممول/ل.

الآليات التفارغية والهرمونية مهمة في التحكم الأيضي بالتفاعلات المحفزة بالإنزيمات:

يعرض (الشكل 17-9) سبيلاً أيضياً افتراضياً D, C, B, A حيث تكون التفاعلات ومتوازنة، أما فهو تفاعل غير متوازن. ويمكن تنظيم التدفق خلال مثل هذا السبيل بتوافر الركيزة A. وهذا يعتمد على مدى تأمينه من الدم، والذي يتوقف بدوره على مدخول كاف من الطعام إلى الأمعاء، أو على بعض التفاعلات المولدة الأساسية التي تحافظ على الركائز الرئيسة وتحررها إلى الدم، مثل التفاعلات المولدة للتدفق المحفزة بالفسفوريلاز في الكبد (الشكل 20-1) التي تهاجم مخازن الجليكوجين وتزود الدم بالجلوكوز، وكذلك الليباز الحساس للهرمون في النسيج الشحمي (الشكل 27-8) الذي يؤمن الأحماض الدهنية الحرة وهي الوقود الرئيسي للأنسجة. كما يعتمد التدفق أيضاً على قابلية الركيزة A على النفوذ عبر الغشاء الخلوي. ويمكن تحديد التدفق أيضاً بناءً على فعالية إزالة الناتج النهائي D، وكذلك اعتماداً على توافر الركائز المساعدة أو تمائم العامل (Cofactors) الممثلة بالحرفين X و Y.

غالباً ما تكون الإنزيمات المحفزة للتفاعلات اللامتوازنة بروتينات تفارغية تتعرض لتأثيرات التلقيم الراجع السريعة أو لتحكم التلقيم الأمامي (الإقبالي) بوساطة **معدلات تفارغية** (Allosteric modifiers) غالباً في استجابة مباشرة تجاه احتياجات الخلية (الفصل 11). وغالباً مايقوم ناتج سبيل ما للتخليق الحيوي، مثل أسيل CoA طويل السلسلة، بتثبيط الإنزيم المحفز لأول تفاعل في ذلك السبيل، مثل كربوكسيلاز أسيتيل CoA.

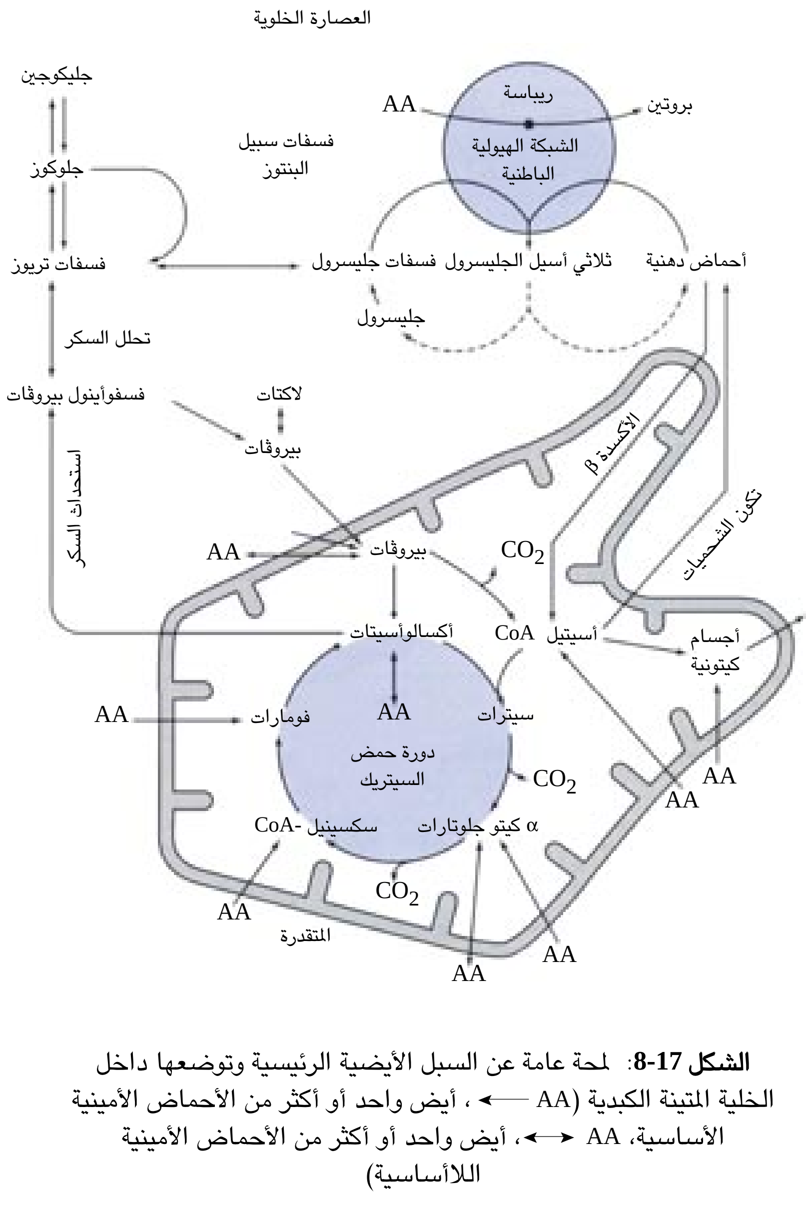
وتعتمد آليات التحكم الأخرى على تأثير **الهرمونات** استجابة لاحتياجات الجسم ككل. وتعمل هذه من خلال آليات متعددة ومتنوعة (الفصل 44) إحداها **التعديل التكافؤي** (التساهمي) (Covalent modification) للإنزيم عن طريق **الفسفتة ونزع الفسفات** (Dephosophorylation). وتكون هذه الآلية سريعة وغالباً ما يتوسطها تشكيل المرسال الثاني cAMP (**أحادي فسفات الأدينوزين**

الحلقي)، الذي يسبب بدوره تحول إنزيم غير فعال إلى إنزيم فعال. حيث يحدث هذا التبدل عن طريق فعالية **كيناز البروتين المعتمد على cAMP** الذي يفسفت الإنزيم، أو عن طريق إنزيم فسفات نوعي ينزع الفسفات من الإنزيم. ويمكن أن يكون الشكل الفعال للإنزيم إما الإنزيم المفسفت كما في حالة الإنزيمات المحفزة **لسبل التدرك** (Degradative) (مثل الفسفوريلاز a) أو إما الإنزيم منزوع الفسفات، كما في حالة الإنزيمات المحفزة **لعمليات التخليق** (مثل سينثيتاز a للجليكوجين).

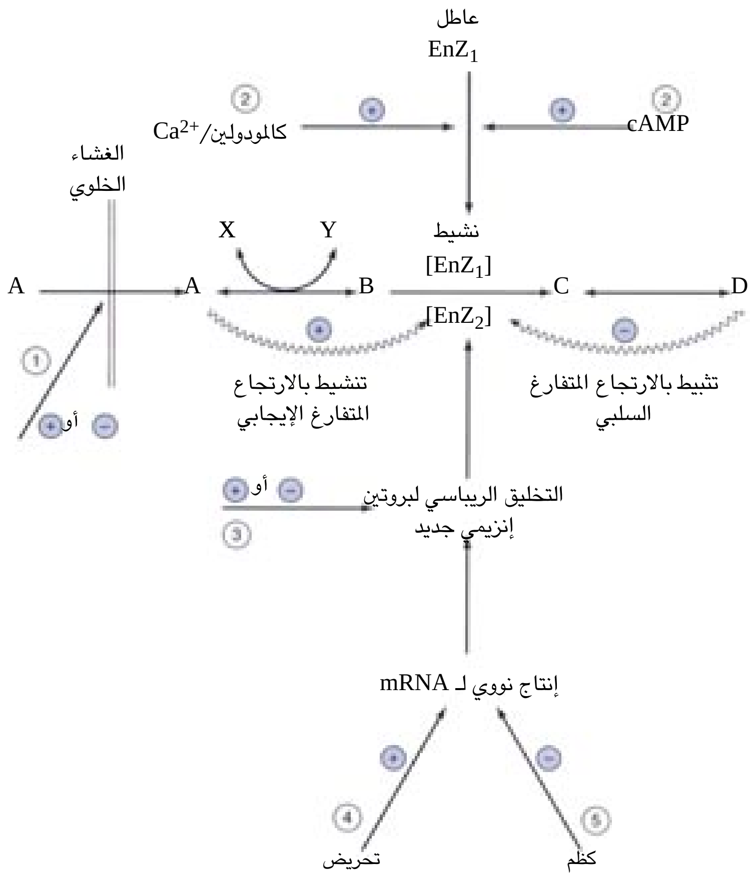
ويمكن فسفتة بعض الإنزيمات المنظمة من دون تواسط cAMP وكينازالبروتين المعتمد على ـ cAMP. وتستجيب هذه الإنزيمات للإشارة الأيضية الأخرى كنسبة [ATP] / [ADP]، مثل نازع هيدروجين البيروڤات (الشكل 19-6)، أو كيناز البروتين المعتمد على الكالمودولين /Ca^{2+}، مثل كيناز الفسفوريلاز (الشكل 20-6).

يمكن أن يتأثر تخليق الإنزيمات المتحكمة بسرعة التفاعل بالهرمونات. لأنه يتضمن تخليق بروتين جديد، وهو لا يكون تبدلاً سريعاً، لكنه في الأغلب استجابة لتغير في الحالة التغذوية. وتستطيع الهرمونات أن تعمل كمحرضات (Inducers) أو ككواظم (Repressors) لعملية تشكيل الـ mRNA في النواة، أو كمنبهات (Stimulators) لمرحلة الترجمة في مجرى تخليق البروتين على مستوى الريباسات (الفصلان 41 و 44).

وفي أغلب الأحيان، وكنتيجة للتلاؤم المتعدد طويل الأمد، فإن معظم الإنزيمات في سبيل ما قد تكون متأثرة. وهذا له تأثير هو تمكين التدفق من أن يزداد من دون أن تزداد تراكيز متوسطات السبيل كثيراً، الذي سوف يؤدي بشكل أو بآخر إلى حدوث تبدلات تناضحية في الخلية. إن الخاصية المهمة التي تساعد في التحكم الأيضي هي أن السبل التي تحفز تدرك مادة ما، هي ليست انعكاساً بسيطاً لسبيل التخليق. فعادة يشترك سبيلان منفصلان تماماً، وهذا يسمح بالتحكم المنفصل لكل منهما، كما هو الحال في سبيل تخليق الجليكوجين وتقويضه (الشكل 20-1).



الشكل 17-8: لمحة عامة عن السبل الأيضية الرئيسية وتوضعها داخل الخلية المتينة الكبدية (AA ←—— ، أيض واحد أو أكثر من الأحماض الأمينية الأساسية، AA ←→، أيض واحد أو أكثر من الأحماض الأمينية اللاأساسية)



الشكل 17-9: آليات مراقبة تفاعل ما يحفزه إنزيم. تشير الأرقام ضمن الدائرة إلى المواقع المحتملة لفعل الهرمونات. 1– تبدل النفوذية الغشائية؛ 2– تحول الإنزيم من الشكل العاطل للنشيط، الذي يتضمن عادة تفاعلات فسفتة/ نزع فسفات؛ 3– تبدل معدل ترجمة الـ mRNA على المستوى الريباسي؛ 4 – تحريض تشكيل mRNA جديد؛ و 5 كظم تشكيل الـ mRNA. يكون كل من 1 و 2 سريعين، في حين تكون 3 – 5 طرق أبطأ لتنظيم الفعالية الإنزيمية.

الخلاصة:

1 – تزود نواتج الهضم الأنسجة باللبنات الأساسية للتخليق الحيوي للجزيئات المعقدة وكذلك بالوقود لتفعيل العمليات الحياتية.

2 – تتأيض تقريباً كافة نواتج هضم السكريات والشحميات والبروتينات إلى ناتج الأيضى مشترك هو أسيتيل CoA، قبل أن يؤكسد نهائياً إلى CO_2 في دورة حمض السيتريك.

3 – يستخدم أسيتيل CoA أيضاً كلبنة أساسية للتخليق الحيوي للأحماض الدهنية طويلة السلسلة والكوليسترول ولسيترويدات أخرى بدءاً من السكريات، وللكوليسترول وللأجسام الكيتونية من الأحماض الدهنية.

4 – يؤمن الجلوكوز الهياكل الكربونية لجزء الجليسرول في الدهن وللأحماض الأمينية اللاأساسية المتعددة.

5 – تنقل جميع نواتج الهضم الذوابة في الماء مباشرة إلى الكبد عن طريق الوريد البابي الكبدي لمعالجتها. ويتضمن هذا في أغلب الأحيان أكسدة أو تخليق الجزيئات، والتي يصدر بعضها إلى باقي أنحاء الجسم، مثل بروتينات البلازما. وللكبد دور مباشر في تنظيم تركيز العديد من مكونات الدم، بما فيها الجلوكوز والأحماض الأمينية، لأن وظيفته الأولية هي خدمة الأنسجة خارج الكبدية.

6 – يوجد بالإضافة إلى النواة، ثلاثة أحياز أيضية تحت خلوية العصارة ابتدائية تحوي سبل تحلل السكر وتكون الجليكوجين وتحلل الجليكوجين وسبيل فسفات البنتوز وتكون الشحم. والمتقدرة التي تحوي الإنزيمات الأساسية للأكسدة بما فيها تلك التي في دورة حمض السيتريك والأكسدة البتائية للأحماض الدهنية والسلسلة التنفسية. ويحدث أيض الأحماض الأمينية ليس فقط في العصارة الخلوية والمتقدرات. لكن أيضاً في الشبكة الهيولية الباطنية، حيث يتم عند موقع الريباسات تحويل الأحماض الأمينية إلى البروتينات. وتحوي أغشية الشبكة الهيولية الباطنية أيضاً الإنزيمات المسؤولة عن العديد من العمليات الأخرى منها تشكيل الشحميات الجليسرولية وأيض الأدوية.

7 – تنظم السبل الأيضية بآليات سريعة تتأثر بفعالية الإنزيمات الموجودة، مثل التعديل التفارغي والتكافؤي. حيث غالباً ما يبدأ هذا الأخير بتأثير الهرمونات. وتنظم الهرمونات كذلك بآليات طويلة الأمد، عن طريق تحريض أو تثبيط تخليق البروتين الإنزيمي من خلال تبدلات في التعبير الجيني (Gene expression).

***References**

Cohen P: *Control of Enzyme Activity*, 2nd ed. Chapman & Hall, 1983.

Fell D: *Understanding the Control of Metabolism.* Portland Press, 1997.

Hue L, Van de Werve G (editors): *Short-Term Regulation of Liver Metabolism.* Elsevier/North Holland, 1981.

Newsholme EA, Crabtree B: Flux-generating and regulatory steps in metabolic control. *Trends Biochem Sci* 1 98 1 ;6:53.

Newsholme EA, Start C: *Regulation in Metabolism.* Wiley, 1973.

الفصل الثامن عشر

دورة حمض السيتريك: تقويض أسيتيل تميم الإنزيم A

The citric Acid Cycle: The Catabolism of Acetyl-CoA

مقدمة:

دورة حمض السيتريك (دورة كريبس Krebs؛ دورة الحمض ثلاثي الكربوكسيل) هي سلسلة من التفاعلات تجري في المتقدرات وتؤدي لتقويض ثمالات الأسيتيل وتحرير المكافئات الهيدروجينية، التي تقود عند أكسدتها إلى تحرير معظم الطاقة المتاحة في الوقود النسيجي واقتناصها على شكل ATP. وتكون ثمالات الأسيتيل على شكل أسيتيل التميم A (acetyl-CoA) (الأسيتات الفعالة، CH_3-CO~S-CoA) وهو أستر لتميم الإنزيم A. حيث يحوي الـ CoA ڤيتامين حمض البانتوثينيك (B_5).

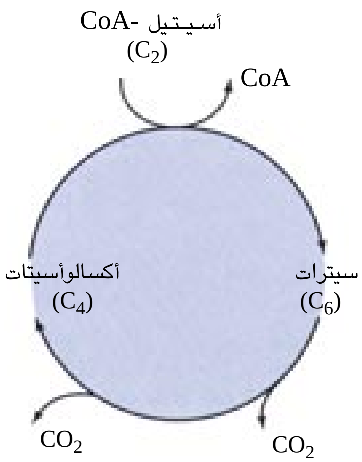
الأهمية الطبية البيولوجية:

إن الوظيفة الرئيسية لدورة حمض السيتريك هي أنها السبيل المشترك النهائي لأكسدة السكريات والشحميات والبروتينات. وهذا لأن كل من الجلوكوز والأحماض الدهنية ومعظم الأحماض الأمينية تستقلب جميعها إلى أسيتيل CoA أو إلى

متوسطات في الحلقة. وهي تلعب أيضاً دوراً رئيسياً في استحداث السكر ونقل الأمين ونزع الأمين وتكون الشحم. وتُنجز العديد من هذه العمليات في أنسجة متعددة، إلا أن الكبد هو النسيج الوحيد الذي تجري فيه كل هذه العمليات وبدرجة معتبرة. لهذا فإن التنكسات تكون عميقة عندما، على سبيل المثال، تتضرر أعداد كبيرة من الخلايا الكبدية أو يحل مكانها نسيج ضام كما هو الحال في التهاب الكبد (Hepatitis) الحاد والتشمع (Cirrhosis) على الترتيب. والشهادة الصامتة على الأهمية الحياتية لدورة حمض السيتريك هي تلك الحقيقة التي تقول إنه في حال تبين وجود أي شذوذات جينية في إنزيمات الدورة عند الإنسان فإنها ستكون قليلة جداً، ومن المسلم به أن مثل هذه الشذوذات تتعارض مع التطور السوي.

توفر دورة حمض السيتريك الركيزة للسلسلة التنفسية:

تتضمن الدورة بشكل أساسي اتحاد جزيء من أسيتيل CoA مع الأكسالوأسيتات وهو حمض ثنائي الكربوكسيل ـ رباعي الكربون، مما يؤدي إلى تشكيل حمض ثلاثي الكربوكسيل ـ سداسي الكربون هو السيترات (حمض الستريك). وتجري بعد ذلك سلسلة من التفاعلات يتحرر فيها جزيئان من CO_2، ويعاد تشكيل الأكسالوأسيتات (الشكل 18-1). ونظراً لأن كمية قليلة فقط من الأكسالوأسيتات تلزم لتسهيل تحول كمية كبيرة من وحدات الأسيتيل إلى CO_2 فإنه يمكن النظر إلى الأكسالوأسيتات على أنها تلعب دوراً تحفيزياً (Catalytic role).



الشكل 18-1: دورة حمض السيتريك التي توضح الدور التحفيزي للأكسالوأسيتات.

تعد دورة حمض السيتريك جزءاً متمماً للعملية التي يتم بوساطتها جعل قسم كبير من الطاقة الحرة المتحررة في أثناء أكسدة السكريات والشحميات والأحماض الأمينية متاحاً للاستخدام. وتتشكل خلال أكسدة أسيتيل CoA في الدورة مكافئات مختزلة (Reducing equivalents) بشكل هيدروجين أو إلكترونات كنتيجة لفعالية نازعات هيدروجين نوعية. ثم تدخل هذه المكافئات المختزلة إلى السلسلة التنفسية، حيث تتولد كميات كبيرة من الـ ATP في عملية الفسفتة التأكسدية (الشكل 18-2؛ انظر أيضاً الفصل 14). وهي عملية هوائية تحتاج الأكسجين كمؤكسد نهائي للمكافئات المختزلة. لهذا فإن غياب الأكسجين (Anoxia) أو عوزه الجزئي (Hypoxia) يسبب تثبيطاً كاملاً أو جزئياً للدورة.

تتوضع إنزيمات دورة حمض السيتريك في المطرس (Matrix) المتقدري، إما حرة أو مرتبطة بالسطح الداخلي للغشاء المتقدري الداخلي، الذي يسهل نقل المكافئات المرجعة للإنزيمات المجاورة في السلسلة التنفسية المتوضعة في الغشاء المتقدري الداخلي.

تحرر تفاعلات دورة حمض السيتريك مكافئات مختزلة و CO_2 (الشكل 18-3)[1]:

يجري تفاعل التكاثف الأولي بين أسيتيل CoA والأكسالوأسيتات بتحفيز إنزيم تكاثف هو سنثيتاز السيترات (Citrate synthetase) فتتشكل السيترات، ويقوم هذا الإنزيم بتفعيل تخليق (Synthesis) رابطة كربون ــ كربون بين الكربون الميثيلي في أسيتيل CoA وكربون الكربونيل في الأكسالوأسيتات. ويلي تفاعل التكاثف، الذي يشكل سيتريل -CoA، حلمهة الرابطة الثيوأسترية في الـ CoA، ويترافق ذلك مع خسارة كبيرة من الطاقة الحرة بشكل حرارة، لكنه يضمن جريان التفاعل نحو النهاية التامة.

[1] – *بموجب اتفاقية الكيمياء الحيوية المعيارية، تشير النهاية ate (آت) في، على سبيل المثال، البلميتات، لأي مزيج من الحمض الحر وشكله (أشكاله) المتأين (بحسب الباهاء pH) والتي لا تكون فيه الهوابط نوعية. وتم إقرار الاتفاقية ذاتها في هذا النص من أجل جميع الأحماض الكربوكسيلية.*

أستيل CoA + أكسالوأستيات + H_2O ⟵ سيترات + CoA

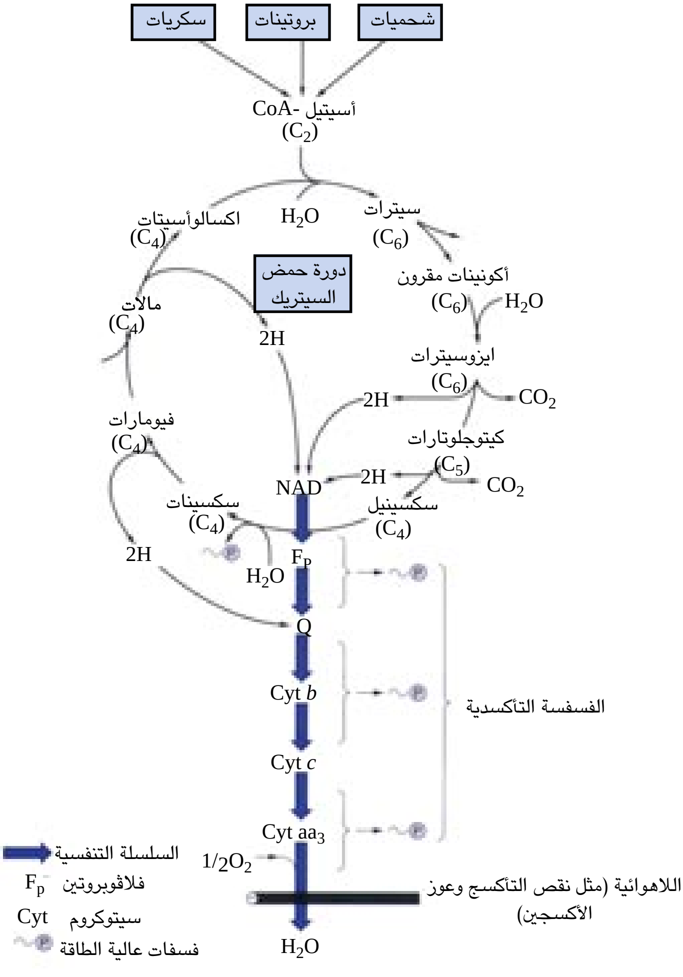
وتتحول السيترات إلى أيزوسيترات (مماثل السيترات) بوساطة إنزيم الأكونيتاز (Aconitase) هيدراتاز الأكونيتات)، الذي يحوي الحديد بحالة Fe^{2+} في شكل بروتين حديد كبريت (Fe: S). ويجري هذا التحول في خطوتين: نزع الماء ليتشكل الأكونيتات المقرون، الذي يبقى بعض منه مرتبطاً بالإنزيم، وإعادة الماء (الإمهاء) ليتشكل أيزوسيترات.

سيترات ⟷ أكونيتات مقرون ⟷ أيزوسيترات

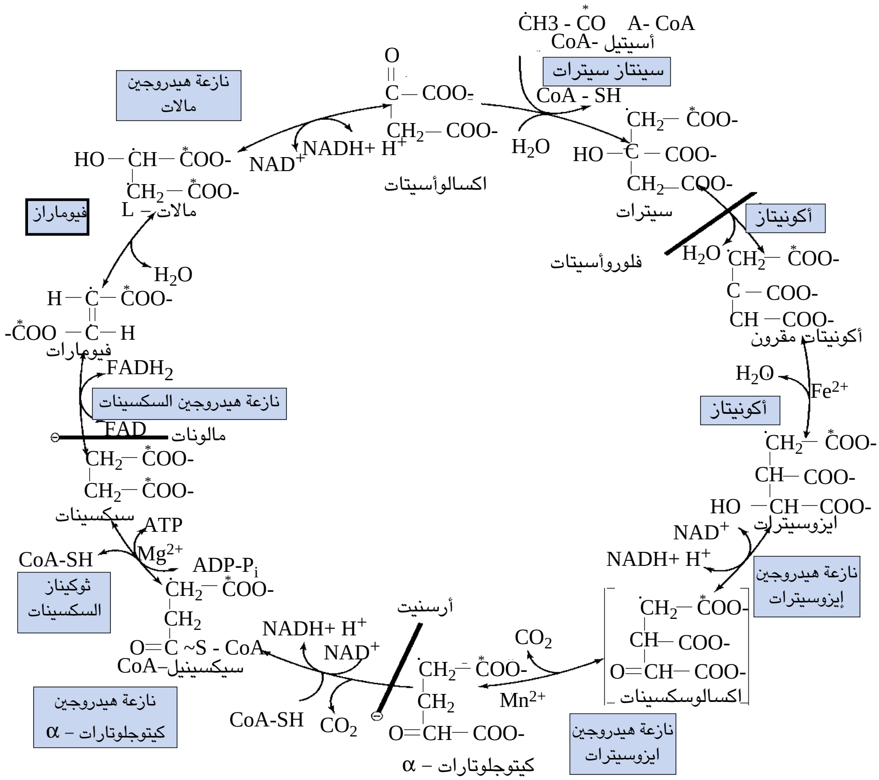
H_2O (مرتبط بالإنزيم) H_2O

ويتثبط هذا التفاعل بالفلورو أسيتات (Fluroacetate)، التي، وهي بشكل فلوروأسيتيل -CoA، تتكاثف مع الأكسالوأسيتات ليتشكل فلوروسيترات. حيث تثبط هذه الأخيرة الأكونيتاز مسببةً بذلك تراكم السيترات. تشير التجارب التي استخدمت متوسطات موسومة بالكربون -^{14}C إلى أن الأكونيتاز يتفاعل مع السيترات بأسلوب لاتناظري، بحيث تكون النتيجة أن الأكونتياز يعمل دائماً على ذلك الجزء من جزيء السيترات الذي يشتق من الأكسالوأسيتات.

وقد كان هذا مربكاً، لأنه كان واضحاً أن حمض السيتريك مركب متناظر. لكن من المعروف الآن (عندما ينظر للجزيء في ثلاثة أبعاد) أن زمرتي $–CH_2COO–$ ليستا متماثلتين فراغياً فيما يتعلق بالرمز – OH و – COO. وقد يكون ممكناً إدراك نتائج التأثير اللاتناظري للأكونيتاز، الذي ينجم عن ارتباط الإنزيم بثلاث نقاط في الركيزة (الشكل 8-3)، بالرجوع إلى مصير أسيتيل -CoA الموسوم في دورة حمض السيتريك كما هو مبين في (الشكل 18-3). ومن المحتمل أن لا يكون الأكونيتات المقرون متوسطاً إلزامياً بين السيترات وأيزوسيترات، لكنه قد يكون في الواقع فرعاً جانبياً من السبيل الأساسي.



الشكل 18-2: دورة حمض السيتريك: السبيل الرئيسي لتقويض الأسيتيل –CoA في الكائنات الحيوائية. يدخل الأسيتيل CoA–، وهو ينتج عن تقويض كل من السكريات والبروتينات والشحميات، إلى الدورة، إلى جانب H_2O، ويؤكسد إلى CO_2 مع تحرير مكافئات مختزلة (2H) وتؤدي الأكسدة التالية لـ 2H في السلسلة التنفسية إلى فسفتة مقترنة لـ ADP إلى ATP. وتتولد 11 زمرة (P)~ في كل لفة من الدورة عن طريق الفسفتة التأكسدية وتنشأ زمرة ~(P)واحدة على مستوى الركيزة من تحويل سكسينيل CoA– إلى سكسينات.



الشكل 3-18 :دورة حمض السيتريك (كريبس). تؤدي أكسدة NADHو FADH2 في السلسلة التنفسية إلى توليد ATP عن طريق الفسفتة التأكسدية. ولكي نتتبع مرور الأسيتيل CoA خلال الدورة فقد تم إظهار ذرتي كربون جذر الأسيتيل موسومتين عند الكربون الكربوكسيلي (مؤشرة بنجمة) وعند الكربون الميثيلي (باستخدام الإشارة). وعلى الرغم من أنه تُفقد ذرتي كربون بشكل CO_2 في لفّة واحدة من الدورة، فإن هاتين الذرتين غير مشتقتين من الأسيتيل -CoA الذي كان قد دخل تواً إلى الدورة، بل من ذلك الجزء من جزيء السيترات الذي اشتق من الأكسالوأسيتات. مع ذلك وعند اكتمال لفة واحدة من الدورة، فإن الأكسالوأسيتات التي أعيد توليدها تكون الآن موسومة، مما يؤدي إلى إعطاء CO_2 موسوم لأنه تحرر في أثناء اللفة الثانية من الدورة. وحيث أن السكسينات مركب متناظر ولأن نازعة هيدروجين السكسينات لا تميز بين زمرتي الكربوكسيل فيها، فإنه يجري توزع عشوائي للوسم عند هذه الخطوة بحيث تبدو كل ذرات الكربون الأربع في الأكسالوأسيتات موسومة بعد لفة واحدة من الدورة. وينجبل بعض من وسم الأكسالوأسيتات في الجلوكوز والجليكوجين أثناء استحداث السكر (الشكل 21-1). ولمناقشة النواحي الكيميائية الفراغية لدورة حمض السيتريك. تدل الإشارة (–) إلى مواضع التثبيط بوساطة الفلوروأسيتات والمالونات والأرسنيت

التفاعل محفز بوساطة	طريقة إنتاج P~	جزيئات ATP المتشكلة
نازعة هيدروجين إيزوستيرات	أكسدة NADH في السلسلة التنفسية	3
نازعة هيدروجين -α كيتوجلوتارات	أكسدة NADH في السلسلة التنفسية	3
ثيوكيناز السكسينات	فسفتة على مستوى الركيزة	1
نازعة هيدروجين السكسينات	أكسدة FADH2 في السلسلة التنفسية	2
نازعة هيدروجين المالات	أكسدة NADH في السلسلة التنفسية	3
		الصافي12

الجدول 18-1: توليد الـ ATP في دورة حمض السيتريك

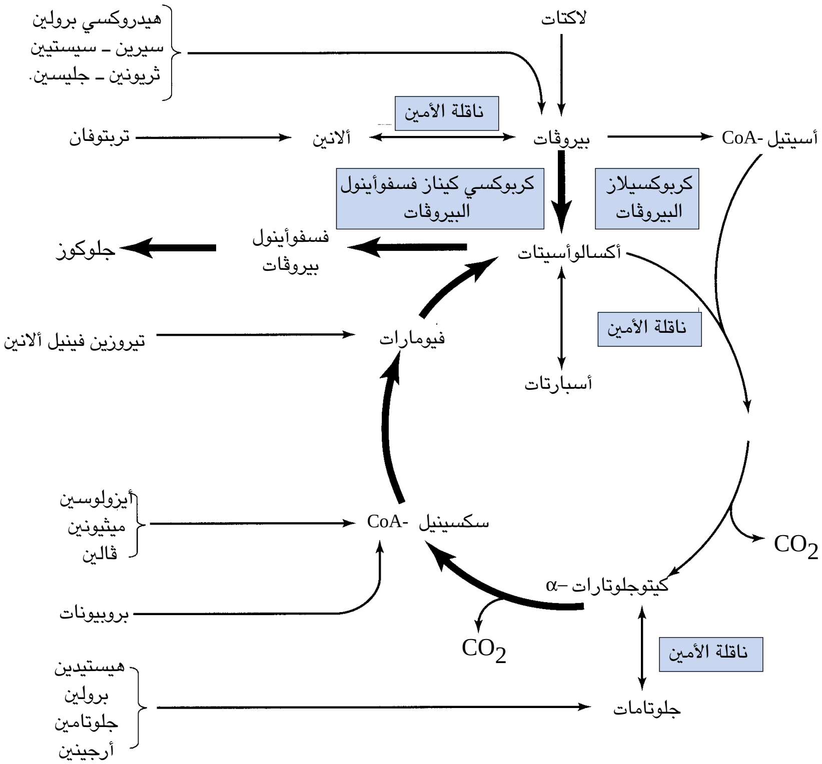
ويخضع أيزوسيترات لنزع هيدروجين بوجود نازعة هيدروجين أيزوسيترات فيتشكل أكسالوسكسينات. وقد تم التعرف على ثلاث أنماط مختلفة من نازعة هيدروجين الأيزوسيترات. الأول نوعي لـ NAD^+ ويوجد فقط في المتقدرات. والآخران نوعيان لـ $NADP^+$ ويوجدان في المتقدرات والعصارة الخلوية على الترتيب. وتتواصل أكسدة الأيزوسيترات المرتبطة بالسلسلة التنفسية بشكل كامل تقريباً بتوسط الإنزيم المعتمد على NAD^+.

NAD^+ + إيزوسيترات ⟷ أكسالوسكسينات (مرتبط بالإنزيم) ⟷ α كيتوجلوتارت+

$$H^+ + NADH + CO_2$$

ويتبع ذلك نزع الكربوكسيل (Decarboxylation) ليعطي α – كيتوجلوتارات بتفاعل يحفزه أيضاً نازعة هيدروجين أيزوسيترات. إن المنجنيز Mn^{2+} (أو المغنيزيوم Mg^{2+}) مكون مهم لتفاعل نزع الكربوكسيل ويبدو أن أكسالوسكسينات تبقى مرتبطة بالإنزيم كمتوسط في التفاعل ككل.

ويجتاز α – كيتوجلوتارات بعد ذلك تفاعل نزع كربوكسيل تأكسدي بأسلوب مشابه لنزع الكربوكسيل التأكسدي من البيروڤات (الشكل 19-5) حيث تعطي كلتا الركيزتين أحماضاً α – كيتونية.



الشكل 4-18: مشاركة دورة حمض السيتريك في نقل الأمين واستحداث السكر. تشير الأسهم الثخينة إلى السبيل الرئيسي لاستحداث السكر.

كيتوجلوتارات – α + NAD^+ + CoA ⟷ CoA- سكسينيل + CO_2 + NADH + H^+

يحفز هذا التفاعل معقد نازع هيدروجين α – كيتوجلوتارات، الذي يتطلب أيضاً تمائم عامل مماثلة لمعقد نازعة هيدروجين البيروفات، أي الثيامين ثنائي الفسفات والليبوات و NAD^+ و FAD و CoA، ويؤدي إلى تشكيل سكسينيل -CoA، وهو مركب ثيوأستري عالي الطاقة. ويكون التوازن لهذا التفاعل يسير بشكل راجح نحو تشكيل سكسينيل -CoA بحيث يعد هذا التفاعل بالضرورة تفاعلاً وحيد الاتجاه من الناحية الفيزيولوجية. وكما في حالة أكسدة البيروفات (الفصل 19)، يثبط الزرنيخ هذا التفاعل مسبباً تراكم الركيزة α – كيتوجلوتارات (α - Ketoglutarate).

ولمتابعة الدورة يتحول سكسينيل -CoA إلى السكسينات بإنزيم ثيوكيناز السكسينات (Succinate thiokinase) (أو سنتاز سكسينيل CoA).

CoA- سكسينيل + Pi + ADP ⟵ سكسينات + ATP + CoA

وهذا هو المثال الوحيد في دورة حمض السيتريك عن توليد فسفات عالية الطاقة على مستوى الركيزة ويحدث ذلك بسبب تحرر طاقة حرة من تفاعل نزع الكربوكسيل التأكسدي لـ α – كيتوجلوتارات، وتكون كافية لتوليد فسفات عالية الطاقة، بالإضافة إلى تشكيل NADH (المكافئ لثلاث روابط فسفاتية عالية الطاقة = 3~P).

يحوي المطرس المتقدري نمطاً ثانياً أيضاً من سنتاز سكسينيل -CoA نوعي لنوكليوتيدات الجوانين، لكن ليس له دور في دورة حمض السيتريك. وهناك تفاعل بديل يحدث في الأنسجة خارج الكبد ويحفزه ترانسفيراز (ناقلة) سكسينيل –CoA – أسيتوأسيتات -CoA (ثيوفوراز: Thiophorase)، وهو تحول سكسينيل -CoA إلى السكسينات المقترن مع تفاعل تحول أسيتوأسيتات إلى أسيتوأسيتيل – CoA (الفصل 24).

تستقلب السكسينات فيما بعد وتخضع لتفاعل نزع هيدروجين ويليه إضافة ماء ثم نزع الهيدروجين ثانية، الذي يعيد تشكيل الأكسالو أسيتات.

$$FADH_2 + \text{فومارات} \longleftrightarrow FAD + \text{سكسينات}$$

يحفز تفاعل نزع الهيدروجين الأول بوساطة نازعة هيدروجين السكسينات الذي يكون مرتبطاً بالسطح الداخلي للغشاء المتقدري الداخلي خلافاً لباقي إنزيمات الدورة، التي توجد في المطرس. وهذا هو تفاعل نزع الهدروجين الوحيد في دورة حمض السيتريك، الذي يتضمن نقلاً مباشراً للهيدروجين من الركيزة إلى البروتين الفلاڤيني من دون مشاركة NAD^+. ويحوي هذا الإنزيم الـ FAD وبروتين حديد ـ كبريت (Fe: S).

وتتشكل الفومارات نتيجة لنزع الهيدروجين. ولقد بينت التجارب التي استخدمت النظائر أن للإنزيم نوعية فراغية لذرات الهيدروجين المفروقة الموجودة في ذرتي كربون الميثيلين في السكسينات. وتؤدي إضافة المالونات أو الأكسالوأسيتات إلى محضرات ملائمة إلى تثبيط نازعة هيدروجين السكسينات بشكل تنافسي مؤدياً ذلك إلى تراكم السكسينات.

يحفز الفوماراز (Fumarase)؛ (هيدراتاز الفومارات) تفاعل ضم الماء إلى الفومارات فيعطي المالات:

$$L - \text{مالات} \longleftrightarrow H_2O + \text{فومارات}$$

وبالإضافة لكونه نوعياً للزمير ـ L للمالات، فإن الفوماراز يحفز إضافة عناصر الماء إلى الرابطة المضاعفة في الفومارات في الشكل المفروق. وتتحول المالات إلى أكسالوأسيتات بتواسط نازعة هيدروجين المالات وهو تفاعل يتطلب NAD^+.

$$NADH + H^+ + \text{أكسالوأسيتات} \longleftrightarrow NAD^+ + L\text{- مالات}$$

ومع أن توازن هذا التفاعل يفضل بقوة جهة المالات، فإن التدفق الصافي يكون باتجاه الأكسالوأسيتات، لأن هذا المركب، إلى جانب الناتج الآخر عن هذا التفاعل (أي NADH)، يزالان بشكل متواصل في تفاعلات تالية.

توجد إنزيمات دورة حمض السيتريك، باستثناء نازعات هيدروجين α– كيتوجلوتارات والسوكسينات، خارج المتقدرات أيضاً. حيث قد تحفز تفاعلات مشابهة، وبعض الإنزيمات، مثل نازعة هيدروجين المالات، قد لا تكون في الواقع البروتينات ذاتها كالإنزيمات المتقدرية التي لها التسمية نفسها أي أنها تكون نظائر إنزيمية.

يتشكل اثنا عشر جزيء ATP خلال كل لفة من دورة حمض السيتريك:

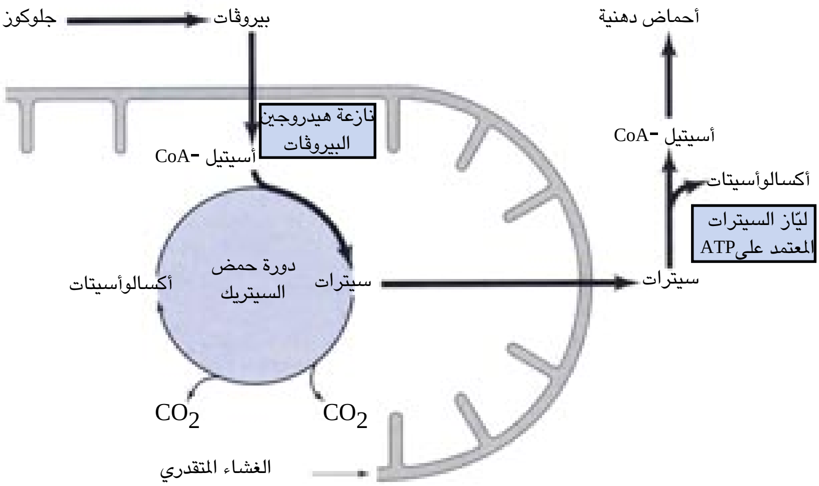
بنتيجة تفاعلات الأكسدة المحفزة بالإنزيمات نازعة الهيدروجين في دورة حمض السيتريك وينتج ثلاث جزيئات من NADH وجزيء من $FADH_2$ مقابل كل جزيء من أسيتيل CoA يتم تقويضه في لفة واحدة من الدورة. وتنقل هذه المكافئات المختزلة إلى السلسلة التنفسية في الغشاء المتقدري الداخلي (الشكل 18-2).

وخلال مرورها على طول السلسلة، تولد المكافئات المختزلة الآتية من NADH، ثلاث روابط فسفاتية عالية الطاقة عن طريق أسترة ADP إلى ATP بعملية الفسفتة التأكسدية (انظر الفصل 14). إلا أن $FADH_2$ يعطي رابطتي فسفات عالية الطاقة فقط لأنه ينقل قوته المختزلة إلى المركب Q، متخطياً بذلك المقر الأول من مقرات الفسفتة التأكسدية في السلسلة التنفسية (الشكل 14-7).

كما تتولد فسفات إضافية عالية الطاقة على مستوى الدورة نفسها (أي، على مستوى الركيزة) وذلك خلال تحول سكسينيل -CoA إلى سكسينات. وبذلك يتولد اثنا عشر جزيء من ATP في كل لفة من الدورة (الجدول 18-1).

تلعب الڤيتامينات أدواراً أساسية في دورة حمض السيتريك:

تقوم أربع من الڤيتامينات الذوابة في الماء من المجموعة B، بأدوار دقيقة في وظيفة دورة حمض السيتريك. وهي (1) الريبوفلاڤين B_2 في شكل فلاڤين أدينين ثنائي النوكليوتيد (FAD)، وتميم العامل في معقد نازعة هيدروجين α – كيتوجلوتارات وفي نازعة هيدروجين السكسينات؛ و (2) النياسين (niacin) (B_3)، في شكل نيكوتيناميد أدينين ثنائي النوكليوتيد (NAD)، وهو تميم إنزيمي لثلاث نازعات هيدروجين في الدورة، هي نازعة هيدروجين أيزوسيترات ونازعة هيدروجين α– كيتوجلوتارات ونازعة هيدروجين المالات؛ (3) الثيامين (الڤيتامين B_1) (Thiamin) على شكل ثيامين ثنائي الفسفات، وهو تميم إنزيمي لنزع الكربوكسيل في تفاعل نازعة هيدروجين α ـ كيتوجلوتارات و (4)حمض البانتوثينيك (B5) (Pantothenic acid)، كجزء من تميم الإنزيم A (CoA)، وهو تميم العامل المرتبط بثمالات حمض الكربوكسيل الفعالة كما في أسيتيل ـ CoA وسكسينيل -CoA.



الشكل 18-5: مساهمة دورة حمض السيتريك في تخليق الأحماض الدهنية من الجلوكوز. انظر الشكل 23-5 أيضاً.

تلعب دورة حمض السيتريك دوراً محورياً في الأيض:

تنتهي بعض السبل الأيضية عند أحد مكونات دورة حمض السيتريك، في حين تنشأ سبل أخرى عن الدورة. وتتعلق هذه السبل بعمليات استحداث السكر ونقل الأمين ونزع الأمين وتخليق الأحماض الدهنية. لذلك فإن دورة حمض السيتريك تلعب أدواراً في كل من عمليات الأكسدة والتخليق على حد سواء، أي أنها مزدوجة الفعل (Amphibolic) (متقابلة أو ثنائية الاتجاه أي لها اتجاه تقويضي واتجاه ابتنائي). ويلخص (الشكل 18-4) هذه الأدوار.

تشارك دورة حمض السيتريك في استحداث السكر ونقل الأمين ونزع الأمين:

تعد كافة عناصر الدورة الرئيسية بدءاً من السيترات وانتهاء بالأكسالوأسيتات مركبات مولدة للسكر بشكل كامن، لأنها يمكن أن تؤدي إلى إنتاج صاف من الجلوكوز في الكبد أو الكلية، وهي تلك الأعضاء التي تحوي مجموعة كاملة من الإنزيمات الضرورية لاستحداث السكر (الفصل 12). والإنزيم الأساسي الذي يسهل انتقال الركيزة الطليعة خارج الدورة إلى السبيل الرئيسي لاستحداث السكر هو كربوكسي كيناز فسفوإينول بيروفات الذي يحفز نزع كربوكسيل الأكسالوأسيتات ليتشكل فسفوإينول بيروفات، حيث يعمل GTP كمصدر للفسفات عالية الطاقة في هذا التفاعل (الشكل 18-4).

أكسالوأسيتات +GTP ⟶ فسفوإينول بيروفات + Co_2 + GDP

ويحدث الانتقال الصافي إلى داخل الدورة كنتيجة لتفاعلات مختلفة ومتعددة. من أهمها تفاعل تشكيل الأكسالوأسيتات بضم الكربوكسيل للبيروفات بتحفيز كربوكسيلاز البيروفات.

ATP + CO_2 + H_2O + بيروفات ⟶ أكسالواسيتات + ADP + Pi

وهذا التفاعل على قدر كبير من الأهمية أيضاً لأنه يحافظ على تراكيز كافية من الأكسالوأسيتات من أجل حدوث تفاعل التكاثف مع أسيتيل CoA. فإذا تراكم

أسيتيل ـ CoA فهو يعمل عندئذ كمنشط تفارغي لكربوكسيلاز البيروفات وبذلك يتأمن التزويد بالأكسالوأسيتات. وتدخل اللاكتات، وهي ركيزة مهمة في سبيل استحداث السكر، إلى الدورة عن طريق تحولها إلى البيروفات ومن ثم إلى الأكسالو أسيتات.

تنتج تفاعلات الإنزيمات ناقلة الأمين (Aminotransferase) البيروفات من الآلانين، والأكسالوأسيتات من الأسبارتات، و α ـ كيتوجلوتارات من الجلوتامات. ولأن هذه التفاعلات عكسية، فإن الدورة تعمل أيضاً كمصدر للهياكل الكربونية لتخليق الأحماض الأمينية اللاأساسية مثل:

ألانين + أكسالوأسيتات ⟷ بيروفات + أسبارتات ⟶

ألانين + α – كيتوجلوتارات ⟷ بيروفات + جلوتامات ⟶

وتساهم الأحماض الأمينية الأخرى في استحداث السكر لأن كلاً أو جزءاً من هياكلها الكربونية يدخل إلى دورة حمض السيتريك بعد الخضوع لنقل أو لنزع الأمين. وكأمثلة على ذلك؛ الأحماض التي تشكل البيروفات وهي: الآلانين، والسيستئين، والجليسين، وهدركسي البرولين، والسيرين، والثريونين، والتربتوفان، أما التي تشكل α – كيتوجلوتارات عن طريق الجلوتامات فهي الأرجنين، والهيستيدين، والجلوتامين، والبرولين، والتي تشكل سكسينيل CoA- هي الأيزولوسين والميثيونين والفالين، والتي تشكل الفومارات فهي: التيروزين والفنيل ألانين (الشكل 18-4).

ويمكن للمواد التي تعطي البيروفات أن تختار إما الدخول في تفاعل أكسدة كاملة إلى Co_2 فيما لو سلكت سبيل نازعة هيدروجين البيروفات وأعطت أسيتيل CoA، أو أن تتبع سبيل استحداث السكر عن طريق ضم الكربوكسيل لتشكيل الأكسالوأسيتات.

ويحظى تحول البروبيونات، وهو المنتج الرئيسي المكون للجلوكوز، من عملية التخمر في الكرش، إلى سكسينيل ـ CoA بسبيل ميثيل مالونيل ـ CoA (الشكل 12-2) بأهمية خاصة عند المجترات.

تشارك دورة حمض السيتريك في تخليق الأحماض الدهنية (الشكل 5-18):

يعد أستيل ـ CoA المتشكل من البيروفات بتأثير نازعة هيدروجين البيروفات، اللبنة الأساسية في تخليق الأحماض الدهنية طويلة السلسلة عند غير المجترات، (حيث يشتق أسيتيل CoA عند المجترات مباشرة من الأسيتات). ولأن نازعة هيدروجين البيروفات إنزيم متقدري والإنزيمات المسؤولة عن تخليق الأحماض الدهنية تقع خارج المتقدرات، فإن الخلية تحتاج لانتقال أسيتيل ـ CoA عبر الغشاء المتقدري، الذي هو غير نفوذ تجاه الأسيتيل –CoA. ويتحقق ذلك بالسماح لأستيل – CoA بأن يشكل السيترات في دورة حمض السيتريك، ثم انتقال السيترات خارج المتقدرات (السيترات نفوذة) ويتوافر في النهاية الأسيتيل ـ CoA في العصارة الخلوية عن طريق انشطار السيترات بتفاعل يحفزه إنزيم لياز السيترات المعتمد على ATP (ATP Citrate lyase).

سيترات + ATP + CoA ⟵ CoA– أسيتيل + أكسالواسيتات + ADP + Pi

يعتمد تنظيم دورة حمض السيتريك بشكل أساسي على توافر تمائم العامل المؤكسدة:

يوجد في أغلب الأنسجة، حيث تكون الوظيفة الأساسية لدورة حمض السيتريك هي توفير الطاقة، شكوك ليست بذات أهمية عن أن المراقبة التنفسية (Respiratory control) عن طريق السلسلة التنفسية والفسفتة التأكسدية هي نظام التحكم المهيمن على فعالية دورة حمض السيتريك (الفصل 14). وبذلك، فإن الفعالية تعتمد بشكل مباشر على تأمين تمائم العامل المؤكسدة لنازعات الهيدروجين (مثل NAD^+)، وبالتالي، وبسبب الاقتران المحكم بين الأكسدة والفسفتة، فهي تعتمد على توافر ADP، وبناء على ذلك، تعتمد في النهاية على معدل استعمال الـ ATP. لذلك، فعندما يكون هناك كفاية من الأكسجين، فإن سرعة إنجاز عمل ما باستهلاك الـ ATP هي التي تحدد كلاً من معدل التنفس وفعالية دورة حمض السيتريك. وبالإضافة إلى هذا التحكم الكلي أو الدقيق، تشير خصائص بعض إنزيمات الدورة إلى أنه قد يمارس

التحكم أيضاً على مستوى الدورة نفسها من أجل تقوية أو دعم التحكم الكلي الصارم.

إن أكثر المواقع المحتملة للتنظيم هي التفاعلات غير المتوازنة، والتي تحفزها نازعة هيدروجين البيروفات وسنتاز السيترات ونازعة هيدروجين أيزوسيترات المرتبط بـ NAD ونازعة هيدروجين α ـ كيتوجلوتارات. حيث تتنشط كل نازعات الهيدروجين هذه بالكالسيوم Ca^{2+}، الذي يزداد تركيزه في أثناء التقلص العضلي والإفراز، أي عندما يزداد الطلب على الطاقة. وفي نسيج ما مثل الدماغ، الذي يعتمد بشكل كبير على السكريات لتأمين أسيتيل -CoA، قد يجري التحكم بدورة حمض السيتريك عند مرحلة نازعة هيدروجين البيروفات. ويوجد في الدورة إنزيمات متعددة تستجيب للحالة الطاقية يمكن التعبير عنها بالنسب [ATP] / [ADP] و / [NAD^+] / [NADH] وبناء عليه، يوجد تثبيط تفارغي لسنتاز السيترات بوساطة كل من الـ ATP وأسيل -CoA الحمض الدهن طويل السلسلة. ويتضارب (يتعاكس) التنشيط التفارغي لنازعة هيدروجين أيزوسيترات المتقدري المعتمد على NAD بوساطة ADP مع كل من ATP و NADH. ويبدو أن معقد نازعة هيدروجين α-كيتوجلوتارات واقع تحت مراقبة مماثلة لتلك التي تمارس على نازعة هيدروجين البيروفات (الشكل 19-6). وتثبط نازعة هيدروجين السكسينات بوساطة الأكسالوأسيتات، حيث يعتمد توافر الأكسالوأسيتات، الذي تتحكم به نازعة هيدروجين المالات، على النسبة [NAD^+]/[NADH] . ولأن قيمة K_m الخاصة بالأكسالوأسيتات في تفاعل سنتاز السيترات هي من قيمة التركيز نفسها داخل المتقدرة، فإنه من الواضح أن تركيز الأكسالوأسيتات يمكن أن يلعب دوراً في مراقبة معدل تشكيل السيترات. وهذه الآلية (إن لم يكن غيرها) من بين الآليات التي تعمل في الأحياء وهي ما تزال قيد الحل والتفسير الكامل.

الخلاصة:

1 – دورة حمض السيتريك هي السبيل النهائي لأكسدة السكريات والشحميات والبروتينات. وهي تحفز اتحاد مستقلبها المشترك أي أسيتيل -CoA مع الأكسالوأسيتات لتشكيل السيترات. ومن خلال سلسلة من تفاعلات نزع الهيدروجين ونزع الكربوكسيل، تتقوض السيترات، وتتحرر مكافئات مختزلة و $2CO_2$ ويعاد تشكيل الأكسالوأسيتات.

2 – تؤكسد المكافئات المختزلة في السلسلة التنفسية مع تحرر ATP. لذلك فإن الدورة هي الطريق الرئيسي لتوليد الـ ATP. وهي متوضعة في مطرس المتقدرات بجوار إنزيمات السلسلة التنفسية والفسفتة التأكسدية.

3 – إن دورة حمض السيتريك هي ثنائية الاتجاه لأنها تقوم بأدوار أيضية أخرى بالإضافة للأكسدة. وهي تشارك في استحداث السكر ونقل الأمين ونزع الأمين وفي تخليق الأحماض الدهنية.

*** References:**

Baldwin JE, Krebs HA: The evolution of metabolic cycles. *Nature* 1981,291:381.

Boyer PD (editor): *The Enzymes*, 3rd ed. Academic Press, 1971.

Goodwin TW (editor): *The Metabolic Roles of Citrate.* Academic Press, 1968.

Greville GD: Vol. 1,p 297, in: *Carbohydrate Metabolism and Its Disorders.* Dickens F, Randle PJ, Whelan WJ (editors). Academic Press, 1968.

Kay J, Weitzman PDJ (editors): *Krebs' Citric Acid Cycle Half a Century and Still Turning.* Biochemical Society, London, 1987

Lowenstein JM (editor): *Citric Acid Cycle: Control and Compartmentation.* Dekker, 1969.

Lowenstein JM (editor): *Citric Acid Cycle.* Vol. 13 in: *Methods in Enzymology.* Academic Press, 1969.

Srere PA: The enzymology of the formation and breakdown of citrate. *Adv Enzymol* 1975;43:57.

Tyler DD: *The Mitochondrion in Health and Disease.* VCH Publishers, 1992.

الفصل التاسع عشر

تحلل السكر وأكسدة البيروڤات

Glycolysis and the Oxidation of Pyruvate

مقدمة:

تحتاج معظم الأنسجة للجلوكوز بالحد الأدنى على الأقل. وفي بعض الحالات كالدماغ، تكون هذه الحاجة أساسية، أما في أنسجة أخرى مثل الكريات الحمر، فالحاجة كلية تقريباً. وتحلل السكر هو السبيل الرئيسي لاستعمال الجلوكوز وهو موجود في العصارة الخلوية بجميع الخلايا. وهو سبيل فريد من نوعه، لأنه يستطيع استعمال الأكسجين إذا كان متوافراً عن طريق السلسلة التنفسية في المتقدرات (هوائي)، أو يستطيع العمل في غياب كلي للأكسجين (لاهوائي). ومع ذلك فأكسدة الجلوكوز إلى ما بعد المرحلة النهائية للبيروڤات في تحلل السكر، لا تتطلب الأكسجين الجزيئي فقط، بل وأيضاً جملاً إنزيمية متقدرية مثل معقد نازعة هيدروجين البيروڤات ودورة حمض السيتريك والسلسلة التنفسية.

الأهمية الطبية البيولوجية:

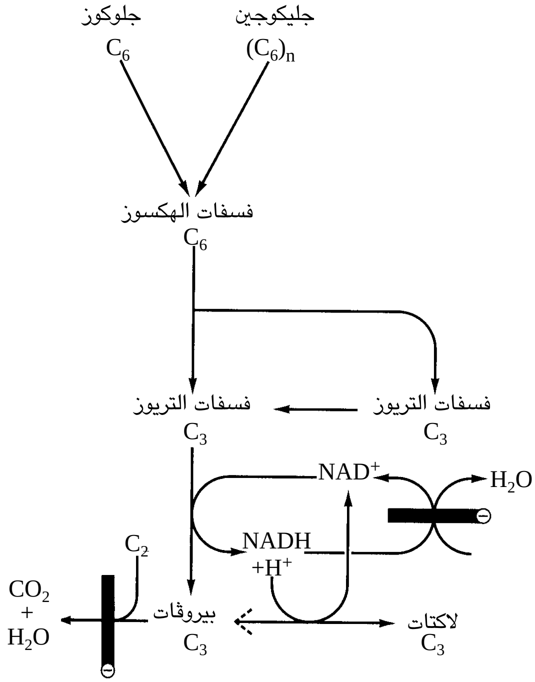
تحلل السكر هو ليس الطريق الأساسي الوحيد لأيض الجلوكوز المؤدي لإنتاج أسيتيل -CoA وللأكسدة في دورة حمض السيتريك، لكنه يوفر أيضاً سبيلاً رئيساً لأيض الفركتوز والجالاكتوز المشتقين من الغذاء. وتعود الأهمية الطبية الحيوية الكبيرة لتحلل السكر لقدرته على تأمين الـ ATP في غياب الأكسجين، لأن هذا

يسمح للعضلات الهيكلية أن تقوم بعملها بمستويات عالية جداً عندما تصبح الأكسدة الهوائية غير كافية، كما يسمح لباقي الأنسجة ذات القدرة الجيدة على إجراء تحلل السكر، بأن تبقى حية في حالات عوز الأكسجين. وبالمقابل، تتصف عضلة القلب المتلائمة مع الأداء الهوائي، بأنها ذات قابلية ضعيفة نسبياً على إجراء تحلل السكر وذات قدرة ضئيلة على البقاء حية في ظروف الإقفار (Ischemia) (نقص التروية). ويحدث عدد قليل من الأمراض التي يكون فيها نقص بفعالية إنزيمات تحلل السكر (مثل كيناز البيروڤات)، وتتظاهر هذه الحالات في الدرجة الأولى بشكل فاقات دم انحلالية (Hemolytic anemias)، أو فيما إذا حدثت في العضلات الهيكلية (مثل فسفوفركتوكيناز)، كتعب (Fatigue). ويجري تحلل السكر في الخلايا السرطانية سريعة النمو بمعدل أعلى بكثير مما تتطلبه دورة حمض السيتريك. وبهذا ينتج من البيروڤات أكثر مما يمكن أيضه. ويؤدي هذا بالتالي إلى إنتاج مفرط من اللاكتات، التي تخلق بيئة موضعية حمضية نسبياً في الورم، وهي حالة قد يكون لها تطبيقات من أجل بعض أنماط معالجة السرطان. وينجم الحماض اللبني (Lactic acidosis) عن أسباب متعددة بما فيها عوز نازعة هيدروجين البيروڤات.

يمكن لتحلل السكر أن يقوم بوظيفته في شروط لا هوائية:

لقد كان معروفاً من خلال الاستقصاءات التي أجريت على سبيل تحلل السكر في فترات مبكرة، بأن عملية التخمر في الخميرة كانت مشابهة لعملية تحطيم الجليكوجين في العضلات. وكان من الملاحظ أنه عندما تتقلص العضلة في وسط لا هوائي، أي الوسط الذي أبعد منه الأكسجين، فإن الجليكوجين يختفي وتظهر اللاكتات كناتج نهائي رئيسي. وعندما يفسح المجال لدخول الأكسجين، يعود السبيل الحيوائي ويظهر الجليكوجين ثانية، بينما تختفي اللاكتات. لكن في حال حدوث التقلص في ظروف هوائية، فإن اللاكتات لا تتراكم وتصبح البيروڤات الناتج النهائي الرئيسي عن تحلل السكر. وتؤكسد البيروڤات فيما بعد إلى CO_2 والماء (الشكل 19-1). ونتيجة لهذه الملاحظات، فلقد كان من المألوف تقسيم أيض

السكريات إلى طورين الهوائي واللاهوائي. ومع ذلك فإن هذا التمييز كيفي، لأن التفاعلات في تحلل السكر هي ذاتها بوجود الأكسجين وفي غيابه، باستثناء درجة حدوثها والنواتج النهائية. فعندما يكون توافر الأكسجين محدوداً، تتضرر عملية إعادة أكسدة NADH المتشكل من NAD^+ خلال تحلل السكر. فتعاد في هذه الظروف أكسدة NADH عن طريق الاقتران بتفاعل إرجاع البيروڤات إلى اللاكتات، ويسمح الـ NAD^+ المتشكل هنا باستمرار جريان تحلل السكر (الشكل 19-1). لذلك يمكن حدوث تحلل السكر في الشروط اللاهوائية، لكن لهذا ثمن، هو أنه يحد من كمية الطاقة المتحررة من أكسدة مول واحد من الجلوكوز. وهكذا، لتأمين كمية محددة من الطاقة يجب أن تخضع كمية أكبر من الجلوكوز لتحلل السكر في الظروف اللاهوائية بالمقارنة مع الظروف الهوائية.



الشكل 19-1: ملخص لسبيل تحلل السكر. (–) خطوة محاصرة في الحالات اللاهوائية أو بغياب المتقدرات التي تحوي الإنزيمات التنفسية الأساسية، كما في الكريات الحمراء.

تفاعلات تحلل السكر هي السبيل الرئيسي لاستعمال الجلوكوز

فيما يلي المعادلة الإجمالية لتحلل السكر بدءاً من الجلوكوز إلى اللاكتات:

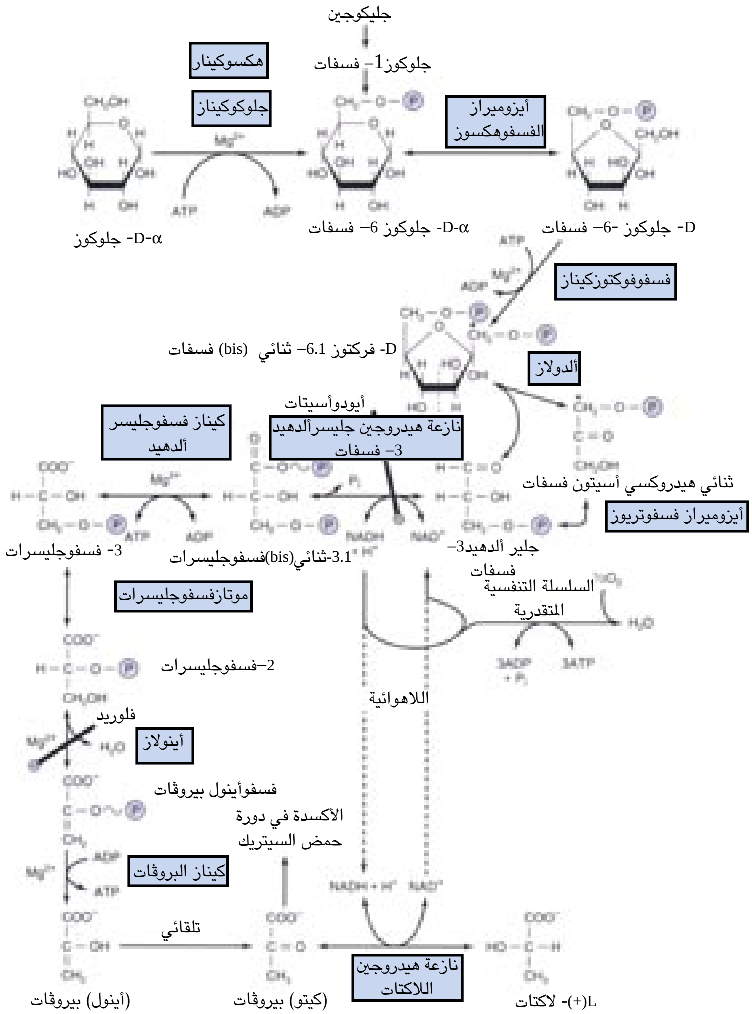
$$\text{جلوكوز} + 2ADP + 2P_i \longrightarrow 2L(+) - \text{لاكتات}\ 2ATP + 2H_2O$$

توجد كافة إنزيمات سبيل تحلُّل السكر (الشكل 19-2) في الجزء الذواب خارج المتقدري من الخلية، أي العصارة الخلوية، ومع أن الدلائل تتراكم وتشير إلى أن بعض الإنزيمات قد تكون مرتبطة مع البنى دوين الخلوية في الخلية إلى جانب السيتوزول. وهي تحفز تفاعلات تحلل السكر من الجلوكوز إلى البيروڤات واللاكتات على الشكل المبين بعد ذلك.

يدخل الجلوكوز لسبيل تحلُّل السكر بالفسفتة إلى جلوكوز 6 ـ فسفات بوساطة إنزيم هكسوكيناز (Hexokinase) ولكن في الخلايا المتنية الكبدية وفي خلايا جزيرات البنكرياس، ينجز هذا التفاعل بوساطة جلوكوكيناز (Glucokinase)، الذي تكون فعاليته في الكبد قابلة للحث (للتحريض Inducible) وتتأثر بتبدلات الحالة التغذوية. ويلزم هنا الـ ATP كمانح للفسفات، وكما في معظم التفاعلات التي تتضمن الفسفتة، يتفاعل ATP وهو بشكل معقد ATP-Mg. حيث تستعمل الفسفات عالية الطاقة الطرفية في ATP فينتج الـADP. ويكون هذا التفاعل مترافقاً مع ضياع كبير في الطاقة الحرة بشكل حرارة، ولهذا، ففي الشروط الفيزيولوجية يمكن أن يعد هذا التفاعل غير عكسي. ويتثبط الهكسوكيناز بأسلوب تفارغي بوساطة الناتج جلوكوز 6 ـ فسفات.

$$\text{جلوكوز} + ATP \xrightarrow{Mg^{2+}} \text{جلوكوز 6– فسفات} + ADP$$

ويوجد الهكسوكيناز فعلياً في كافة الخلايا خارج الكبد، ويتمتع بألفة عالية (أي K_m منخفض)تجاه ركيزته، الجلوكوز. أما وظيفته فهي ضمان توفير الجلوكوز للأنسجة، حتى ولو كان ذلك بوجود تراكيز منخفضة من الجلوكوز في الدم، ويتحقق ذلك بفسفتة كل الجلوكوز الذي يدخل للخلية، وبذلك يحافظ على مدروج تركيزي كبير من الجلوكوز ما بين الدم والوسط داخل الخلوي. وهو يعمل على كل من الأنوميرين ـ α و – β للجلوكوز، ويحفز أيضاً فسفتة الهكسوزات الأخرى ولكن بمعدل أبطأ بكثير من الجلوكوز.



الشكل 19-2: سبيل تحلل السكر. Ⓟ ، $-PO_3^{2-}$؛ Pi ، $HOPO_3^{2-}$؛ ⊖ تثبيط.

عند النجمة: إن ذرات الكربون 1-3 في الفركتوز ثنائي الفسفات تشكل ثنائي هيدروكسي أسيتون فسفات، في حين أن ذرات الكربون 4-6 تشكل جليسرألدهيد 3 – فسفات. يشير مصطلح "bis" (ثنائي) كما في بيس فسفات (ثنائي فسفات bis phosphate) إلى أن الزمر الفسفاتية تكون منفصلة (بالمركب نفسه بمواضع مختلفة) أما مصطلح دي فسفات (ثنائي فسفات diphosphate)، كما في ثنائي فسفات الأدينوزين فيعني أن الزمر الفسفاتية تكون متصلة ببعضها (بنفس المركب بموضع واحد).

إن وظيفة الجلوكوكيناز هي إزالة الجلوكوز من الدم بعد تناول وجبة الطعام. وعلى عكس الهكسوكيناز، فهو يتمتع بقيمة K_m عالية من أجل الجلوكوز ويعمل على النحو الأمثل عند تراكيز أعلى من 5 ممول/ل من الجلوكوز في الدم (الشكل 21-5) وهو نوعي للجلوكوز.

إن الجلوكوز 6 ـ فسفات مركب مهم يقع عند نقطة اتصال العديد من السبل الأيضية (تحلل السكر واستحداث السكر وسبيل فسفات البنتوز واستحداث الجليكوجين وتحلل الجليكوجين). وهو في سبيل تحلل السكر يتحول إلى فركتوز 6 ـ فسفات بوساطة فسفوهكسوز إيزوميراز (Phosphohexoseisomerase)، الذي يتضمن المصاوغة ألدوز ـ كيتوز. ويدخل في هذا التفاعل فقط المصاوغ الكربونيلي (الأنومير) ∝ للجلوكوز 6 ـ فسفات.

∝-D فركتوز 6 – فسفات ⟵⟶ ∝ -D جلوكوز 6–فسفات

ويلي هذا التفاعل فسفتة أخرى بوجود ATP وبتحفيز إنزيم الفسفوفركتوكيناز (Phosphofructokinase) (فسفوفركتوكيناز–1) لينتج فركتوز 1، 6 – ثنائي الفسفات. والفسفوفركتوكيناز إنزيم تفارغي قابل للتحريض، وتلعب فعاليته دوراً مهماً في تنظيم معدل تحلل السكر. ويمكن النظر إلى تفاعل الفسفوفركتوكيناز على أنه هو الآخر تفاعلاً غير عكسي وظيفياً في الشروط الفيزيولوجية.

D– فركتوز 1، 6 – ثنائي الفسفات ⟵ D– فركتوز 6– فسفات + ATP

ثم يشطر الفركتوز 1، 6 – ثنائي الفسفات بوساطة الألدولاز (Aldolase) (ألدولاز الفركتوز 1، 6– ثنائي الفسفات) إلى جزيئين من فسفات التريوز هما جليسرالدهيد 3– فسفات وثنائي هيدروكسي أسيتون فسفات.

ثنائي هيدروكسي أسيتون فسفات + D – جليسرالدهيد3 –فسفات ⟷ D – فركتوز 1، 6 –ثنائي الفسفات

لقد وصفت عدة أنماط مختلفة من إنزيمات ألالدولاز، ويحوي كل منها أربع وحيدات (Subunits). يوجد الألدولاز A في أغلب الأنسجة، وإضافة إلى ذلك، يوجد الألدولاز B في الكبد والكلية. وتوجد جزيئات فسفات الفركتوز في الخلية بشكل

الفورانوز بالدرجة الأولى، لكنها تتفاعل مع كل من أيزوميراز الفسفوهكسوز وفسفوفركتوكيناز والألدولاز وهي على شكل سلسلة مفتوحة. ثم يتحول كل من الجليسرألدهيد 3 – فسفات وثنائي هيدروكسي أسيتون فسفات بينياً بوساطة إنزيم أيزوميراز الفسفوتريوز (Phosphotriose isomerase).

ثنائي هيدروكسي أسيتون فسفات ⟷ D– جليسرالدهيد 3 –فسفات

ويتواصل تحلل السكر بأكسدة الجليسرألدهيد 3 – فسفات إلى 1، 3– ثنائي فسفو جليسرات، وبسبب فعالية أيزوميراز الفسفوتريوز، فإن ثنائي هيدروكسي أسيتون فسفات يؤكسد أيضا إلى1، 3– ثنائي فسفوجليسرات عن طريق جليسرالدهيد 3 –فسفات.

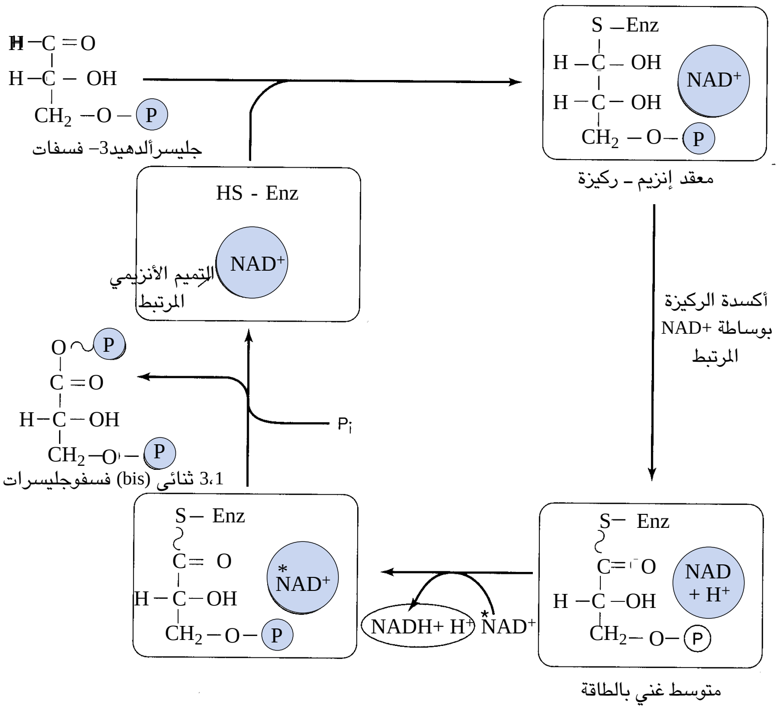
D-جليسرالدهيد3– فسفات + NAD^+ +Pi ⟷ 1، 3 – ثنائي فسفوجليسرات + NADH + H^+

أما الإنزيم المسؤول عن تفاعل الأكسدة، فهو نازعة هيدروجين جليسرألدهيد 3– فسفات المعتمد على NAD. وهو يتألف بنيوياً، من أربعة من عديدات الببتيدات (مونوميرات أي؛ مواحيد؛ أحاديات القسيمة: (Monomers) متماثلة مشكلة بذلك رباعي القسيمة (Tetramer).

وتوجد أربع زمر SH– في كل عديد ببتيدات، وهي مشتقة من ثمالات السيستئين في السلسلة متعددة الببتيد. وتوجد زمرة SH– واحدة منها عند المقر الفعال في الإنزيم (الشكل 19-3). وفي البداية تتحد الركيزة مع زمرة SH هذه فيتشكل ثيوالأسيتال النصفي (Thiohemiacetal) الذي يتحول بالأكسدة إلى إستر ثيولي عالي الطاقة؛ حيث تنزع ذرات الهيدروجين في هذه الأكسدة وتنقل إلى NAD^+ المرتبط بالإنزيم ويكون الـ NADH المنتج مرتبطا بشكل غير محكم بالإنزيم على عكس ارتباط الـNAD^+. وبالتالي يستبدل الـ NADH. بسهولة بجزيء أخر من الـ NAD^+. وتضاف في النهاية الفسفات اللاعضوية (Pi) بالفسرلة (Phosphorolysis) (أي تحطيم رابطة بضم الفسفات)، فيتشكل 3،1 –ثنائي فسفو جليسرات، ويتحرر الإنزيم الحر مع زمرة -SH المعاد تشكلها. وتحفظ الطاقة المتحرره في أثناء الأكسدة بتشكيل زمرة كبريتية عالية الطاقة في الموقع 1 من مركب 3،1 ثنائي فسفو جليسرات.

وتقنص هذه الفسفات عالية الطاقة على شكل ATP بتفاعل لاحق مع الـADP بتحفيز كيناز فسفو الجليسرات تاركة وراءها 3 – فسفو جليسرات.

ATP + 3 فسفو جليسرات ⟷ ADP + 1، 3 – ثنائي فسفو جليسرات



الشكل 3-19: آلية أكسدة جليسرألدهيد 3 – فسفات. (Enz، نازعة هيدروجين جليسرألدهيد 3 – فسفات) يتثبط الإنزيم بإيودوأسيتات السام لزمر SH–، والذي يكون بذلك قادراً على تثبيط تحلل السكر.

ونظراً لأن جزيئين من فسفات التريوز يتشكلان من كل جزيء جلوكوز يخضع لتحلل السكر، لذلك يتولد جزيئان من الـ ATP في هذه المرحلة لكل جزيء جلوكوز، وهذا مثال واضح على الفسفتة على مستوى الركيزة. ويتنافس الزرنيخ (الأرسينات)، في حال وجوده، مع الفسفات اللاعضوية (Pi) في التفاعلات السابقة فيتشكل 1 – زرنيخ (أرسينو) –3– فسفو جليسرات، الذي يتحلمه تلقائياً ليعطي 3–فسفو جليسرات مع إطلاق حرارة دون توليد الـATP. ويعد هذا مثالاً مهماً على قدرة الزرنيخ بإتمام فك اقتران الأكسدة والفسفتة. ثم يتحول 3 ـ فسفو جليسرات، الناشئ عن التفاعل السابق، إلى 2 – فسفو جليسرات بتحفيز إنزيم موتاز الفسفو جليسرات (Phosphoglycerate mutase). ومن المحتمل أن يكون 2، 3 ـ ثنائي فسفوجليسرات (ثنائي فسفو جليسرات DPG) مركباً متوسطاً في هذا التفاعل

2 – فسفوجليسرات ⟷ 3 –فسفو جليسرات

ويحفز الخطوة التالية إنزيم الإينولاز (Enolase) وهي تتضمن نزع ماء (Dehydration) وإعادة توزيع الطاقة في الجزيء فترتفع فسفات الموضع 2 إلى الحالة عالية الطاقة، وبذلك يتشكل فسفو إينول بيروفات. ويتثبط الإينولاز بالفلوريد (Fluoride)، وهي الخاصية التي يمكن استخدامها عند اللزوم لمنع حدوث تحلل السكر في الدم قبل معايرة الجلوكوز فيه. ويعتمد هذا الإنزيم أيضا على وجود إما Mg^{2+} أو Mn^{2+}.

H_2O + فسفوإينول بيروفات ⟷ 2– فسفوجليسرات

ثم تنقل زمرة الفسفات عالية الطاقة في فسفوإينول بيروفات إلى الـ ADP بوساطة إنزيم كيناز البيروفات (Pyruvate kinase) لتوليد، في هذه المرحلة، جزيئين من الـATP مقابل أكسدة جزيء واحد من الجلوكوز ويتحول الإينول بيروفات المتشكل في هذا التفاعل بشكل تلقائي إلى الشكل الكيتوني للبيروفات. وهذا التفاعل هو الآخر غير متوازن ويترافق مع ضياع كمية كبيرة من الطاقة الحرة على شكل حرارة ويجب النظر إليه على أنه تفاعل غير عكوس فيزيولوجياً.

فسفو إينول بيروفات + ADP ⟶ بيروفات + ATP

إن حالة الخزلدة في النسيج هي التي تحدد الآن أياً من السبيلين سيجري بعد ذلك. فإذا كانت الشروط اللاهوائية هي السائدة، فستتوقف عندئذ إعادة أكسدة الـ NADH عن طريق نقل المكافئات المختزلة عبر السلسلة التنفسية إلى الأكسجين. ويتم اختزال البيروفات بوساطة الـ NADH إلى اللاكتات، بتفاعل تحفزه نازعة هيدروجين اللاكتات (Lactate dehydrogenase). حيث يوجد لهذا الإنزيم عدة نظائر إنزيمية لها أهمية سريرية (الفصل 8).

بيروفات + NADH + H^+ ⟷ لاكتات – (+) L+ NAD^+

تسمح إعادة أكسدة الـ NADH عن طريق تشكيل اللاكتات بأن يستمر سبيل تحلل السكر بالجريان في غياب الأكسجين وذلك بإعادة توليد كمية كافية من الـ NAD^+ لحدوث دورة جديدة من التفاعل الذي تحفزه نازعة هيدروجين جليسرألدهيد 3 –فسفات. أما في الشروط الهوائية، فيتم دخول البيروفات إلى المتقدرات وتتحول إلى أسيتيل -CoA ثم تؤكسد إلى CO_2 في دورة حمض السيتريك. وتدخل كذلك المكافئات المختزلة من NADH +H^+ المتشكلة في تحلل السكر إلى المتقدرات عن طريق أحد المكوكين المعروضين في (الفصل 10) وذلك لكي تخضع للأكسدة.

تميل الأنسجة التي تعمل في ظروف نقص الأكسجين إلى إنتاج اللاكتات (الشكل19-2):

وهذا ما يحدث فعلاً في العضلات الهيكلية، بخاصة في الألياف البيضاء، حيث لا يتحدد معدل إنجاز العضو للعمل بسعته من الأكسجة. ويمكن الكشف عن الكميات الإضافية من اللاكتات الناتجة في كل من الدم والبول والأنسجة. وينتهي سبيل تحلل السكر في الكريات الحمراء دائماً باللاكتات، حتى ولو تم ذلك في الشروط الهوائية، بسبب غياب المتقدرات التي تحوي الآلية الإنزيمية الخاصة بالأكسدة الحيوائية للبيروفات. وتنفرد الكرية الحمراء عند الثدييات في أن 90 ٪ على الأقل من إجمالي متطلباتها الطاقية يتأمن عن طريق تحلل السكر. وإلى جانب العضلات الهيكلية والألياف البيضاء والعضلات الملساء والكريات الحمراء، فإن الأنسجة الأخرى التي في الحالة السوية تشتق معظم طاقتها من تحلُّل السكر وتنتج

اللاكتات هي المخ والسبيل المعدي المعوي واللب الكلوي والشبكية والجلد. وتأخذ كل من الكبد والكلى والقلب اللاكتات عادةً وتؤكسدها لكنها سوف تنتجها تحت ظروف نقص الأكسجين.

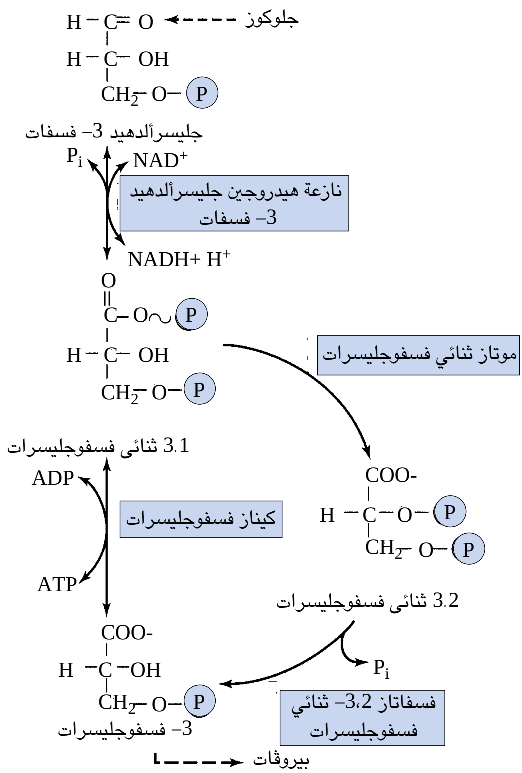
ينظم تحلّل السكر عند ثلاث خطوات تتضمن تفاعلات غير متوازنة:

على الرغم من أن أغلب تفاعلات تحلُّل السكر عكسية، إلا أن ثلاثاً منها يكون مطلق للطاقة بشكل ملحوظ وبالتالي يجب اعتبارها من الناحية الفيزيولوجية تفاعلات غير عكسية. ويحفز هذه التفاعلات كل من الهكسوكيناز (Hexokinase) (والجلوكوكيناز)، والفسفوفركتوكيناز (Phosphofructokinase)، وكيناز البيروڤات (Pyruvate kinase) وهي المواقع الرئيسة ذاتها للتنظيم في تحلل السكر. والخلايا القادرة على إحداث تحركاً صافياً للمتأيضات نحو جهة التخليق (الاصطناع) من السبيل الحالّ للسكر (Glycolytic) (استحداث السكر) إنما تفعل ذلك بسبب وجود جمل إنزيمية مختلفة تؤمن طرقاً بديلة تلتف على التفاعلات غير العكسية المحفزة بالإنزيمات التي نوهنا عنها أعلاه. ولقد نوقش ذلك بالإضافة إلى تنظيم تحلل السكر وتنظيم استحداث السكر في (الفصل 21).

يمكن تجاوز المقر الأول لتوليد الـ ATP في سبيل تحلل السكر بالكريات الحمراء:

يمكن في الكريات الحمراء لدى العديد من أنواع الثدييات، تجاوز الخطوة المحفزة بإنزيم كيناز الفسفوجليسرات وذلك بعملية يتم فيها بشكل فعال تشتيت الطاقة الحرة المرتبطة بالفسفات عالية الطاقة في 1، 3– ثنائي فسفو جليسرات على شكل حرارة (الشكل 19-4). ويوجد إنزيم إضافي، هو موتاز ثنائي فسفوجليسرات الذي يحفز تحول 1 ، 3 ـ ثنائي فسفوجليسرات إلى 2، 3– ثنائي فسفوجليسرات، التي ما تلبث أن تتحول إلى 3 فسفوجليسرات بوساطة فسفاتاز 2، 3 ـ ثنائي فسفوجليسرات، وتنسب الفعالية أيضاً إلى موتاز فسفوجليسرات. إن خسارة

الفسفات عالية الطاقة، والذي يعني عدم وجود إنتاج صاف لـATP عندما يسلك تحلل السكر هذا الطريق، قد تكون ذات فائدة اقتصادية للكريات الحمراء، لأنه يسمح باستمرار جريان تحلل السكر عندما تكون الحاجة للـATP في الحدود الدنيا. من ناحية ثانية، يتحد مركب 2، 3 – ثنائي فسفوجليسرات الذي يوجد بتركيز عال، مع الهيموجلوبين مؤدياً إلى تناقص ألفته تجاه الأكسجين وانزياح منحنى تفارق الأكسي هيموجلوبين نحو اليمين. لذلك فإن وجوده في الكريات الحمراء يساعد الأكسي هيموجلوبين على إفراغ حمولته من الأكسجين (الفصل 7).



الشكل 4-19: سبيل 2، 3 – ثنائي (bis) فسفو جليسرات في الكريات الحمراء.

أكسدة البيروڤات إلى أسيتيل Co A- هو الطريق غير العكسي بين تحلل السكر ودورة حمض السيتريك:

قبل أن تستطيع البيروڤات الدخول إلى دورة حمض السيتريك، يجب أن تنقل لداخل المتقدرة عن طريق ناقل خاص للبيروڤات يساعد على عبورها خلال الغشاء المتقدري الداخلي. ويتضمن هذا آلية المراحل* (Symport) التي يتم بوساطتها انتقال مشارك لبروتون واحد (الشكل 14-12).

ويتم داخل المتقدرة نزع الكربوكسيل التأكسدي من البيروڤات فيتشكل أسيتيل CoA-. ويحفز هذا التفاعل بعدة إنزيمات مختلفة تعمل بشكل متسلسل ضمن معقد متعدد الإنزيمات يكون مرتبطاً مع الغشاء المتقدري الداخلي. وهي تسمى إجمالاً بمعقد نازعة هيدروجين البيروڤات وتكون مشابهة لمعقد نازعة هيدروجين α ـ كيتوجلوتارات في دورة حمض السيتريك (الشكل 18-3). وينزع الكربوكسيل من البيروڤات بوساطة أحد مكونات المعقد السابق وهو إنزيم نازعة هيدروجين البيروڤات ليتشكل مشتق هيدروكسي إيتيلي لحلقة الثيازول في الثيامين ثنائي الفسفات المرتبط بالإنزيم، وهذا يتفاعل بدوره مع الليبوأميد المؤكسد وهو الزمرة الضميمة لإنزيم ناقلة أسيتيل ثنائي هيدروليبويل (Dihydrolipoyl transacetylase) ليتشكل أسيتيل الليبوأميد (الشكل 19-5).

ويعد الثيامين عنصراً مهماً من مجموعة الڤيتامينات B (الفصل 52). ويتفاعل أسيتيل الليبوأميد مع تميم الإنزيم A (CoA) ليتشكل أسيتيل CoA- والليبوأميد المختزل.

** من المفترض أن NADH المتشكل في تحلل السكر، يتم نقله لداخل المتقدرات عن طريق مكوك المالات (انظر الشكل 14-16). وإذا استخدم مكوك الجليسرول فسفات، فإن 2 فقط من (P)~ سوف تتشكل لكل جزئ من الـ NADH، فيكون الإنتاج الصافي الإجمالي 36 بدلاً من 38. ويتجاهل الحساب الخسارة الضئيلة من الـ ATP الناجمة عن نقل H^+ الداخل المتقدرة مع البيروڤات، ونقل مشابه لـ H^+ عبر مكوك المالات، والإجمالي جزيئا واحدا تقريباً من ATP. ولاحظ أنه توجد فائدة كبيرة في الشروط اللاهوائية فيما إذا كان الجليكوجين هو نقطة البداية، لأن الإنتاج الصافي من الفسفات عالية الطاقة في تحلل السكر يزداد من 2 إلى 3، لأنه لا يلزم بعد ذلك الـ ATP لتفاعل الهكسوكيناز.*

وتكتمل دورة التفاعل عندما تعاد أكسدة الليبوأميد المختزل بوساطة الفلاڤوبروتين الحاوي FAD بوجود إنزيم نازعة هيدروجين ثنائي هيدروليبويل. ويؤكسد الفلاڤوبروتين في النهاية بوساطة NAD^+، الذي ينقل بدوره المكافئات المختزلة إلى السلسلة التنفسية.

$$\text{بيروڤات} + NAD^+ + CoA \longrightarrow \text{أسيتيل}\text{-}CoA + NADH + H^+ + CO_2$$

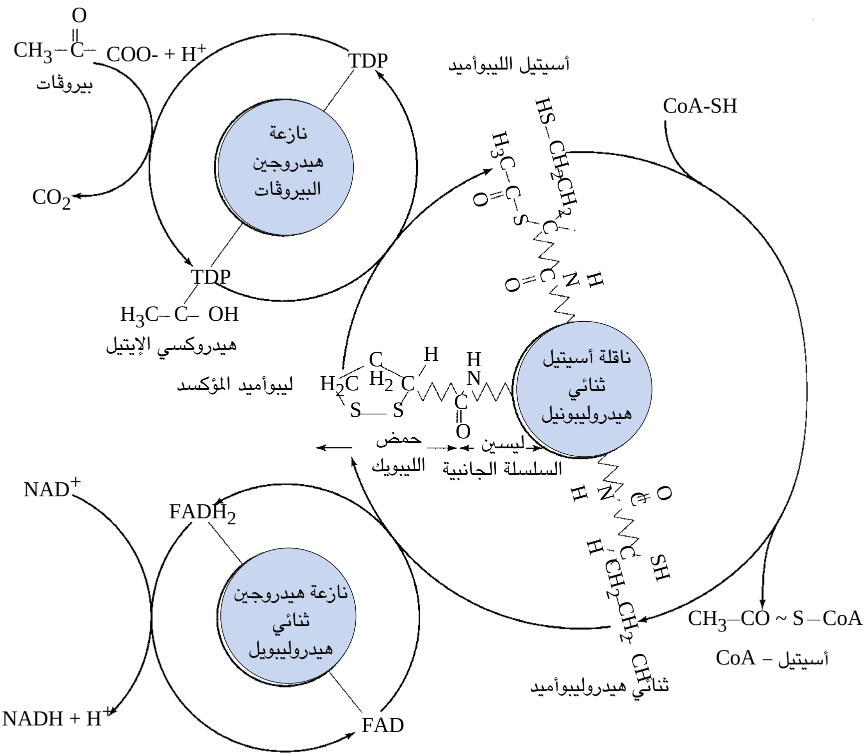
يتألف معقد نازعة هيدروجين البيروڤات من عدد من السلاسل متعددة الببتيد لكل من الإنزيمات الثلاث المكونة للمعقد، وتنتظم كلها في هيئة فراغية متناسقة. ويبدو أن حركة الإنزيمات الإفرادية تكن مقيدة، ولا تتفارق المتوسطات الأيضية بحرية بل تبقى مرتبطة بالإنزيمات. تقوم مثل هذه المعقدات الإنزيمية، التي تنتقل فيها الركائز من إنزيم إلى الذي يتلوه، بزيادة معدل التفاعل وبحذف التفاعلات الجانبية مما يؤدي إلى زيادة الفعالية الإجمالية.

وعلينا ملاحظة أن جملة نازعة هيدروجين البيروڤات تكون سالبة في كمون الخزلدة على نحو كاف وذلك فيما يتعلق بالسلسلة التنفسية التي، بالإضافة لتوليد تميم الإنزيم المختزل (NADH)، فهي تولد أيضاً زمرة ثيوإسترية عالية الطاقة في الأسيتيل -CoA.

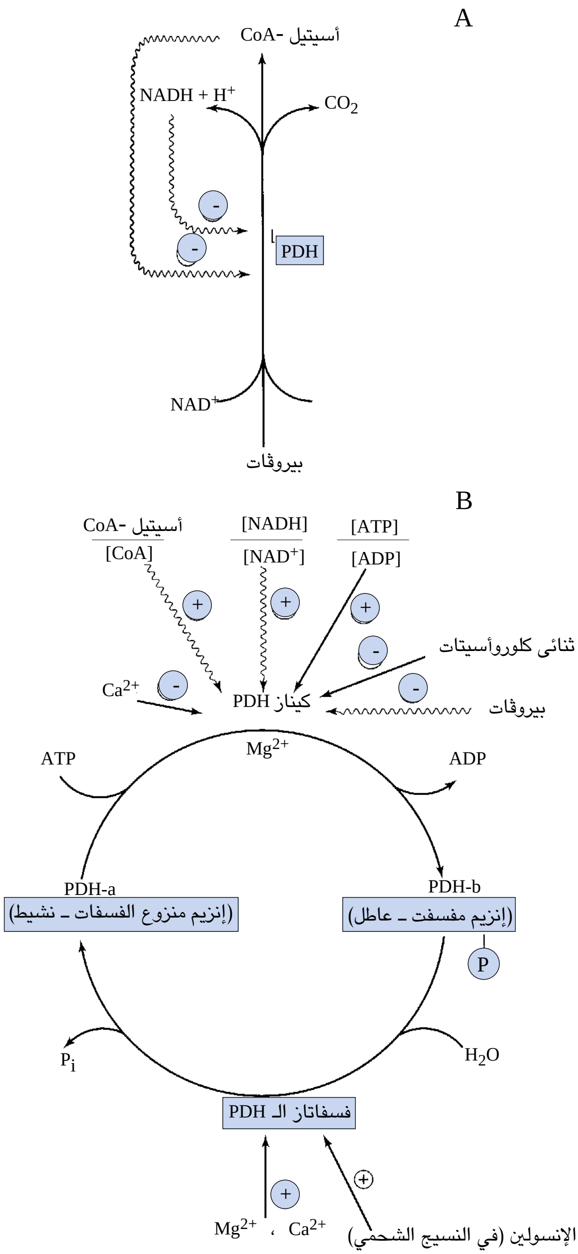
تنظم نازعة هيدروجين البيروڤات عن طريق التثبيط بالناتج النهائي وبالتعديل التكافؤي (التساهمي):

تثبط نازعة هيدروجين البيروڤات بنواتجها؛ الأسيتيل CoA و NADH (الشكل 19-6). وهي تنظم أيضاً بفسفتة ثلاث ثمالات من السيرين في نازعة هيدروجين البيروڤات وهو مكون من المعقد متعدد الإنزيمات وذلك بمشاركة كيناز نوعي للـ ATP الذي يسبب تناقصاً بالفعالية، وكذلك بنزع الفسفاتاز بإنزيم الفسفات الذي يسبب ازدياداً بالفعالية. ويتنشط الكيناز بزيادة كل من النسب ATP إلى ADP ([ATP/ [ADP]) و أسيتيل CoA إلى CoA [CoA]/ [أسيتيل CoA] و NADH إلى +NAD ([NAD+] / [NADH]). وبذلك تتثبط نازعة هيدروجين البيروڤات ـ وبناء

عليه تحلل السكر ـ ليس فقط بكمون الطاقة العالي، بل وأيضاً في حال أكسدة الأحماض الدهنية، التي تؤدي لزيادات في كل هذه النسب. وهكذا ففي الجوع، عندما تزداد تراكيز الأحماض الدهنية الحرة، يحدث تناقص في نسبة الإنزيم الفعال، مما يؤدي إلى توفير السكريات. وتزداد الفعالية في النسيج الدهنى بعد إعطاء الإنسولين، ولكن لا يحدث ذلك في الكبد.



الشكل 5-19: نزع الكربوكسيل التأكسدي للبيروڤات بوساطة معقد نازعة هيدروجين البيروڤات. يكون حمض الليبويك مرتبطاً برباط أميدي إلى ثمالة ليسين في ناقلة الأسيتيل وهو أحد مكونات المعقد الإنزيمي. وهو يشكل ذراعاً طويلة لينة (قابلة للثني) مما يسمح للزمرة الضميمة حمض الليبويك بأن تدور بشكل متسلسل بين المقرات الفعالة لكل من إنزيمات هذا المعقد. (NAD^+: نيكوتيناميد أدينين ثنائي النوكليوتيد؛ FAD: فلاڤين أدينين ثنائي النوكليوتيد؛ TDP: ثنائي فسفات الثيامين).



الشكل 19-6: تنظيم نازعة هيدروجين البيروفات (PDH). تشير الأسهم المتموجة إلى التأثيرات التفارغية. A: التنظيم بوساطة التثبيط بالناتج النهائي. B: التنظيم بوساطة التحول البيني للشكلين النشيط والعاطل.

تعطي أكسدة الجلوكوز نحو 38 جزيئا من الـ ATP في الشروط الهوائية، و 2 جزيئاً فقط عندما يغيب الأكسجين:

يتحرر 2870 كيلو جول تقريباً على شكل حرارة عندما يحرق جزيئا واحداً من الجلوكوز في المكلار (Calorimeter) (مسعر حراري ـ مقياس الكالوريات) بالكامل حتى CO_2 والماء. أما عندما تجري الأكسدة في الأنسجة، فإن بعضاً من هذه الطاقة لا يضيع مباشرة بشكل حرارة، لكن يتم اقتناصه كفسفات عالية الطاقة. ويتولد نحو 38 جزيئاً من الـATP مقابل كل جزيء جلوكوز يؤكسد إلى CO_2 و الماء. وتم احتساب قيمة ΔG لتفاعل سنتاز الـ ATP داخل الجسم (in vivo) وهي تعادل 51.6 كيلو جول تقريباً. وهذا يعني أن إجمالي الطاقة المقتنصة بشكل ATP عند أكسدة 1 مولاً من الجلوكوز تساوي 1961 كيلوجول، أو 68 ٪ تقريباً من طاقة الاحتراق. ويتشكل معظم الـATP بنتيجة الفسفتة التأكسدية الناتجة عن إعادة أكسدة التمائم الإنزيمية المختزلة بالسلسلة التنفسية. أما الطاقة الباقية فهي تتولد بالفسفتة على مستوى الركيزة (الفصل 14). ويعرض (الجدول 19-1) التفاعلات المسؤولة عن توليد الفسفات عالية الطاقة في أثناء أكسدة الجلوكوز والإنتاج الصافي في الشروط الهوائية واللاهوائية.

المظاهر السريرية:

يؤدي تثبيط أيض البيروڤات إلى الحماض اللبني:

تشكل أيونات الزرنيخ أو الزئبق معقدات مع الزمر SH– في حمض الليبويك فتثبط نازعة هيدروجين البيروڤات تماماً مثلما يحدث في عوز الثيامين في الغذاء حيث تتراكم البيروڤات. ويكون لدى الكحوليين (المدمنين على الكحول) سيئي التغذية عوز في الثيامين، وإذا أعطي لهم الجلوكوز فإنه يحدث عندهم تراكم سريع في البيروڤات وحماض لبني، الذي غالباً ما يكون مهلكاً. أما المرضى الذين لديهم عوز وراثي في نازعة هيدروجين البيروڤات، والذي يمكن أن ينجم عن عيوب في واحد أو

أكثر من مكونات المعقد الإنزيمي، فإنهم يعانون من حماض لبني مماثل، بخاصة بعد تناول الجلوكوز. ويكون المخ هو النسيج الأبرز حيث تتظاهر هذه العيوب الأيضية باضطرابات عصبية، نظراً لأنه يعتمد بشكل أساسي على الجلوكوز كوقود. لقد تبين وجود طفرات فعلياً في كافة إنزيمات أيض السكريات ويرتبط كل منها بمرض عند الإنسان. حيث أن كلاً من عوز الألدولاز A الوراثي وعوز كيناز البيروفات في الكريات الحمر يسببان فقر دم الانحلالي (Hemolytic anemia) وتكون إمكانية إجراء التمارين منخفضة عند مرضى عوز الفسفو فركتو كيناز العضلي، بخاصة عند أولئك المواظبين على غذاء غني بالسكريات. وعند تأمين الدهون كوقود بديل، كما يحدث في أثناء الجوع حيث تزداد الأجسام الكيتونية والأحماض الدهنية الحرة في الدم، فإن إمكانية الأداء (وممارسة التمارين) تتحسن.

السبيل	التفاعل المحفز بـ	طريقة إنتاج ~(P)	عدد زمر ~ (P) المتشكلة لكل مول من الجلوكوز
تحلل السكر	نازعة هيدروجين جليسرالدهيد –3– فسفات	أكسدة 2 من NADH في سلسلة التنفسية	6 (*)
	كيناز الفسفوجليسرات	فسفته على مستوى الركيزة	2
	كيناز البيروفات	فسفته على مستوى الركيزة	2
	السماح باستهلاك ATP بتفاعلات محفزة بالهكسوكيناز وفسفوفركتوكيناز		10 -2 8 الصافي
دورة حمض السيتريك	نازعة هيدروجين البيروفات	أكسدة 2 من NADH في السلسلة التنفسية	6
	نازعة هيدروجين ايزوسيترات	أكسدة 2 من NADH في السلسلة التنفسية	6
	نازعة هيدروجين a – كيتوجلوتارات	أكسدة 2 من NADH في السلسلة التنفسية	6
	ثيوكيناز السكسينات	فسفتة على مستوى الركيزة	2
	نازعة هيدروجين السكسينات	أكسدة FADH2 في السلسلة التنفسية	4
	نازعة هيدروجين المالات	أكسدة 2 من NADH في السلسلة التنفسية	6 30
الإجمالي لمول من الجلوكوز في الظروف الحيوائية			38
الإجمالي لمول من الجلوكوز في الظروف اللاحيوائية			2

الجدول 19-1 : توليد الفسفات عالية الطاقة خلال تقويض الجلوكوز.

(*) من المفترض أن NADH المتشكل في تحلُّل السكر، يتم نقله لداخل المتقدرات عن طريق مكوك المالات انظر (الشكل 14-16). وإذا استخدم مكوك الجليسرول فسفات، فإن 2 فقط من (P) سوف تتشكل لكل مول من الـ NADH، فيكون الإنتاج الصافي الإجمالي 36 بدلاً من 38. ويتجاهل الحساب الخسارة الضئيلة من الـ ATP الناجمة عن نقل +H لداخل المتقدرة مع البيروفات، ونقل مشابه لـ + H عبر مكوك المالات، والإجمالي1 مولاً تقريباً من ATP. ولاحظ أنه توجد فائدة كبيرة في الشروط اللاحيوائية فيما إذا كان الجليكوجين هو نقطة البداية، لأن الإنتاج الصافي من الفسفات عالية الطاقة في تحلل السكر يزداد من 2 إلى3 ، لأنه لا يلزم بعد ذلك الـ ATP لتفاعل الهكسوكيناز.

الخلاصة:

1 – تحلل السكر هو السبيل الموجود في العصارة الخلوية بكل خلايا الثدييات والمختص بأيض الجلوكوز (أو الجليكوجين) إلى البيروڤات واللاكتات.

2 – هو يستطيع القيام بوظيفته لاهوائياً بإعادة توليد NAD^+ المؤكسد الضروري لتفاعل نازعة هيدروجين جليسرالدهيد –3– فسفات، عن طريق اقتران هذا التفاعل بتفاعل اختزال البيروڤات إلى لاكتات.

3 – اللاكتات هي الناتج النهائي لتحلل السكر في الشروط اللاهوائية (كما يحدث في العضلة في أثناء التمارين) أو عندما تغيب الآلية الأيضية المتابعة للأكسدة حتى البيروڤات (كما في الكريات الحمراء).

4 – ينظم تحلل السكر بثلاثة إنزيمات تحفز تفاعلات لامتوازنة هي الهكسوكيناز (أو جلوكوكيناز)، والفسفوفركتوكيناز وكيناز البيروڤات.

5 – يمكن في الكريات الحمراء تجاوز المقر الأول في تحلل السكر الذي يولد الـ ATP مما يؤدي إلى تشكيل 2، 3– ثنائي فسفوجليسرات المهم في تخفيض ألفة الهيموجلوبين تجاه O_2.

6– تؤكسد البيروڤات إلى أسيتيل CoA بمعقد متعدد الإنزيمات يعرف بنازعة هيدروجين البيروڤات المعتمد على تميم العامل الڤيتاميني الثيامين ثنائي الفسفات.

7 – غالباً ما تؤدي الشروط التي تتضمن عدم القدرة على أيض البيروڤات إلى الحماض اللبني.

*** References:**

Behal RH et al: Regulation of the pyruvate dehydrogenase multienzyme complex. *Annu Rev Nutr* 1993;13:497.

Boiteux, A, Hess B: Design of glycolysis. *Phil Trans R Soc London B* 1981;293:5.

Fothergill-Gilmore LA: The evolution of the glycolytic pathway. *Trends Biochem* Sci 1986; 11:47.

Randle PJ, Steiner DF, Whelan WJ (editors): *Carbohydrate Metabolism and Its Disorders,* vol 3. Academic Press, 1981.

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 7th ed. McGraw-Hill, 1995.

Sols A: Multimodulation of enzyme activity. *Curr Top Cell Reg* 1981;19:77.

Srere PA: Complexes of sequential metabolic enzymes. *Annu Rev Biochem* 1987;56:89.

Veneziale CM (editor): *The Regulation of Carbohydrate Formation and Utilization in Mammals.* University Park Press, 1981.

الفصل العشرون

أيض الجليكوجين

Metabolism of Glycogen

مقدمة:

الجليكوجين هو الشكل الادخاري الرئيسي للسكريات في الحيوانات ويقابله النشا في النباتات. وهو يوجد بشكل رئيسي في الكبد (حتى 6 ٪) والعضلات، حيث نادراً ما يتجاوز 1 ٪. مع ذلك، وبسبب الكتلة الكبيرة لها، فإن العضلات تمثل مخزناً من الجليكوجين أكبر بنحو ثلاث إلى أربع مرات من ذلك الذي في الكبد (الجدول 20-1). وهو كالنشا، مكثور متفرع من α-D– جلوكوز (الشكل 15-15).

الأهمية الطبية البيولوجية:

إن وظيفة جليكوجين العضلات هي أن يعمل كمصدر متاح وسريع لوحدات الهكسوز من أجل تحلل السكر ضمن العضلة ذاتها. أما جليكوجين الكبد فهو معني بشكل كبير بتخزين وتصدير وحدات الهكسوز للمحافظة على جلوكوز الدم، بخاصة ما بين الوجبات. فبعد 12-18ساعة من الصيام، يستنفد جليكوجين الكبد بشكل كامل تقريباً، في حين يُستنفد جليكوجين العضلات بشكل كبير فقط بعد التمرين الشاق طويل الأمد. إن أمراض تخزين الجليكوجين (Glycogen storage diseases) هي مجموعة من الاضطرابات الوراثية التي تتميز بتحريك غير سوي (ناقص) للجليكوجين أو ترسيب أشكال غير سوية منه، مما يؤدي إلى ضعف عضلي أو حتى الموت.

يحدث تكون الجليكوجين بالدرجة الأولى في العضلات والكبد:

يتضمن سبيل التخليق الحيوي للجليكوجين نوكليوتيداً خاصاً بالجلوكوز (الشكل 20-1):

يفسفت الجلوكوز إلى جلوكوز 6– فسفات، وهو تفاعل يماثل التفاعل الأول في سبيل تحلل السكر بدءاً من الجلوكوز. ويُحفَّز هذا التفاعل بالهكسوكيناز في العضلات بالجلوكوكيناز في الكبد. ثم يتحول جلوكوز 6– فسفات إلى جلوكوز 1– فسفات بتفاعل يحفزه إنزيم فسفوجلوكوموتاز (Phosophogloucomutase) ويكون الإنزيم مفسفتاً بحد ذاته، وتشارك زمرة الفسفات في تفاعل عكسي يكون فيه الجلوكوز 1، 6 – ثنائي الفسفات مركباً متوسطاً.

جلوكوز 1 – فسفات + الإنزيم P ⟷ جلوكوز 1، 6 ثنائي الفسفات + الإنزيم ⟷ جلوكوز 6 – فسفات + الإنزيم – P

ويتفاعل بعد ذلك الجلوكوز 1 – فسفات مع ثلاثي فسفات اليوريدين (UTP) ليتشكل النوكليوتيد النشيط "جلوكوز ثنائي فسفات اليوريدين (Uridine diphosphate glucose)* (UDPGLc) (الشكل 20-2). حيث يحفز إنزيم بيروفسفوريلاز الـ UDPGLc (UDPGLc pyrophosphorylase) التفاعل بين الجلوكوز 1 – فسفات و ثلاثي فسفات اليوريدين.

UTP + جلوكوز1 –فسفات ⟷ UDPGLc + ppi

ويلي ذلك حلمهة البيروفسفات اللاعضوية بإنزيم البيروفسفاتاز اللاعضوية (Inorganic pyrophosphatase) حيث يؤدي ذلك إلى سحب التفاعل نحو يمين المعادلة.

** تعرف أيضاً مركبات سكرية أخرى للنوكليوزيدات ثنائية الفسفات، مثل UDPGal. إضافة إلى ذلك، قد يكون السكر ذاته مرتبطاً بالنوكليوزيدات المختلفة. فمثلاً، قد يرتبط الجلوكوز بنوكليوتيدات اليوريدين (كماهو مبين أعلاه) أو الجوانوزين أو الثيميدين أو الأدينوزين أو السيتيدين.*

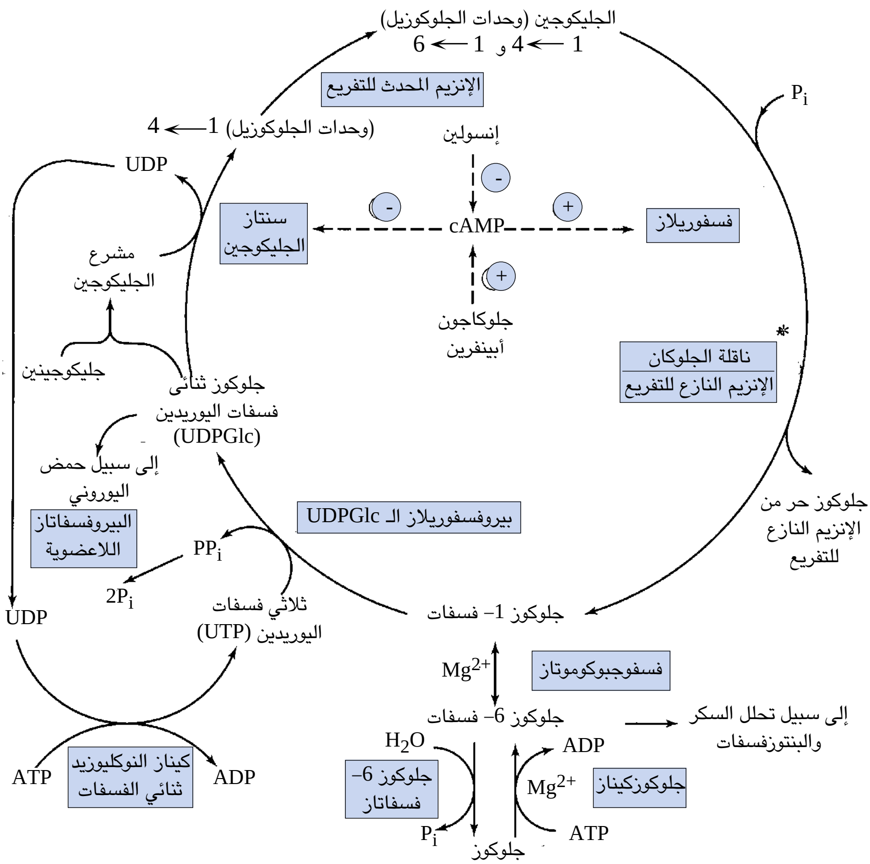
ثم بتـأثير إنزيم سنتـاز الجليكوجين، يشكل الكربون 1 من الجلوكـوز المنشط في UDPGLc رابطة جليكوزيدية مع الكربون 4 في ثمـالة جلوكوز طرفيـة بـالجليكوجين، مع تحـرير ثنائي فسـفـات اليـوريدين (UDP). الجـدير ذكره هنا، أنه من الضـروري توافـر جزيء الجليكوجين، أو الجليكوجين البدئي مسـبقاً للبدء بهذا التفـاعل. وقـد يتـــشكل الجليكوجين البـــدئي بدوره على بروتـين بدئي يســـمى جليكوجـــينين (Glycogenin) (مولد الجليكوجين).

$$\underset{\text{جليكوجين}}{UDPGLc + (C_6)_n} \longrightarrow \underset{\text{جليكوجين}}{UPD + (C_6)^{n+1}}$$

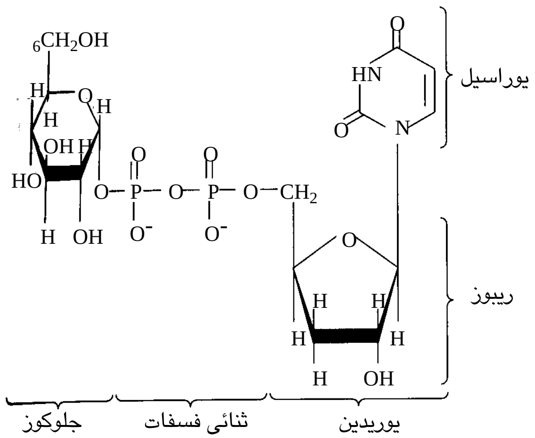
والجليكوجينـين بروتين وزنه الجـزيئي 37 كيلو دالتـون (KD_a) وينضـم الجلوكـوز إليـه في ثمـالة تيروزين نوعيـة بوسـاطة UDPGLc. وترتبط ثمـالات جلوكوز إضـافيـة في الموضـع 1 ⟵ 4 لصنع سلسلة قصيرة هي التي يؤثر فيـها سنتـاز الجليكوجين. ويبقى الجليكوجينين مرتبطاً في مـركـز جزيء الجليكوجين في العضـلات الـهيكلية (الشكل 15-15)، في حين أنـه في الكبـد يكون عـدد جـزيئـات الجليكوجين أكـبـر من عدد جزيئات الجليكوجينين.

جليكوجين الكبد 4 ٪ = 72 جراماً [1]
جليكوجين العضلات 0.7٪ = 245 جراماً [2]
الجلوكوز خارج الخلايا 0.1 ٪ = 10 جراماً [3]
المجموع 327 جراماً.
1 وزن الكبد 1800 جرام
2 كتلة العضلات 35 كج
3 الحجم كلي 10 لتر

الجدول 20-1 : اختزان السكريات بعد الامتصاص عند الإنسان البالغ السوي (وزنه 70 كج).



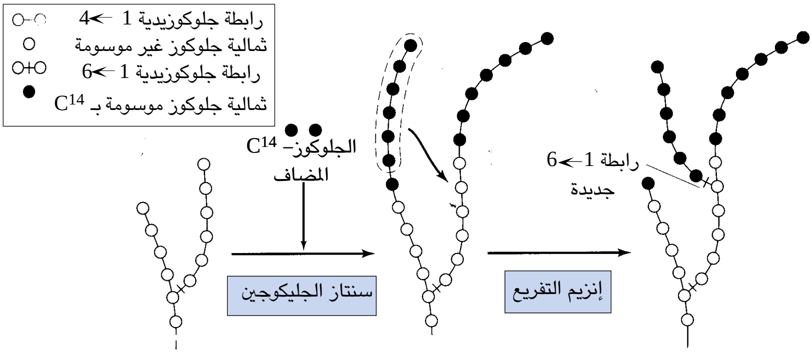
الشكل 20-1: سبيل تكون الجليكوجين وتحلله في الكبد. وتستخدم زمرتي فسفات عالية الطاقة في انجبال مولاً واحداً من الجلوكوز في الجليكوجين. (+): تنبيه؛ (−): تثبيط. ينقص الإنسولين مستوى cAMP فقط بعد أن يكون قد ارتفع بتأثير الجلوكاجون أو الإبينفرين: أي أن الإنسولين يعاكس تأثيراتهما. يكون الجلوكاجون نشيطاً في عضلة القلب لكن ليس في العضلات الهيكلية. تقع عند النجمة خطوة ناقلة الجلوكان والإنزيم النازع للتفريع التي يبدو أنهما فعاليتان منفصلتان ضمن الإنزيم ذاته.



الشكل 20-2: جلوكوز ثنائي فسفات اليوريدين (UDPGlc).

يتضمن التفريع انفصال سلاسل الجليكوجين الموجودة:

تجري إضافة ثمالة الجلوكوز إلى سلسلة الجليكوجين الموجودة سابقاً أو البدئي عند النهاية الخارجية غير المختزلة من الجزيء، بحيث تمتد فروع «شجرة» الجليكوجين كلما تشكلت الروابط 1⟵4 المتعاقبة (الشكل 20-3). وعندما تمتد السلسلة لتبلغ 11 ثمالة جلوكوز كحد أدنى، يقوم إنزيم آخر هو إنزيم التفريع (Branching enzyme) (ناقلة الجليكوزيد transglucosidase– أميلو [1⟵4]⟵[1⟵6]). بنقل جزء من السلسلة 1⟵4 (بطول 6 ثمالات جلوكوز كحد أدنى) إلى سلسلة مجاورة لتشكيل الرابطة 1⟵6 فيتم بذلك تشكيل نقطة تفرع في الجزيء. وتنمو الفروع بإضافة المزيد من وحدات 1⟵4 جلوكوزيل وتتفرع أكثر أيضاً. وكلما ازداد عدد الثمالات الطرفية غير المختزلة، ازداد العدد الإجمالي للمقرات التفاعلية في الجزيء، فيتسرع بذلك كل من تكون الجليكوجين وتحلله.



الشكل 20-3: التخليق الحيوي للجليكوجين. تتوضح آلية التفريع بإضافة الجلوكوز الموسوم بـ C14 إلى غذاء الحيوان الحي وبفحص جليكوجين الكبد بفواصل زمنية تلي ذلك.

تحلل الجليكوجين ليس إعكاساً لتكون الجليكوجين بل هو سبيل مستقل

يتضمن التدرك آلية لنزع التفرع (الشكل 20-1):

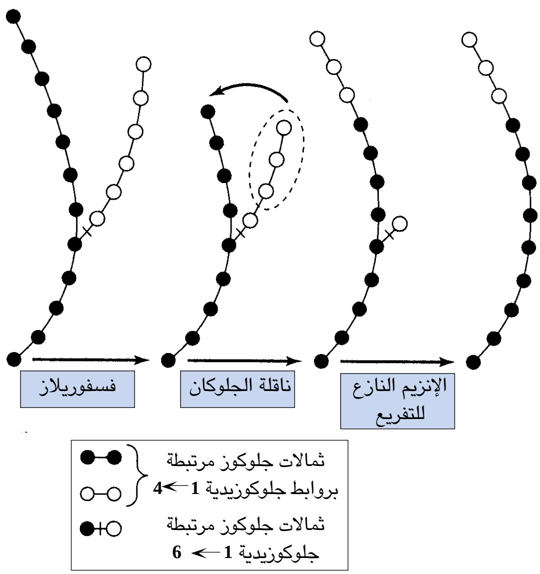
وهي خطوة يحفزها الفسفوريلاز (Phosphorylase)، الإنزيم المحدد للسرعة في سبيل تحلل الجليكوجين.

$$(C_6)_n + Pi \longrightarrow (C_6)_{n-1} + \text{جلوكوز 1 – فسفات}$$

جليكوجين   جليكوجين

وهذا الإنزيم نوعي لتحطيم الرابطة 1 ← 4 في الجليكوجين بالفسرلة (الفسرلة Phosphorolysis؛ مثل الحلمهة) (أو التحلل الفسفوري) ليعطي جلوكوز 1– فسفات. وتنزع ثمالات الجليكوزيل الطرفية بشكل متتابع من السلاسل الأكثر بعداً في جزيء الجليكوجين إلى أن تبقى نحو أربع ثمالات من الجلوكوز على أي جانب من الفرع 1 ← 6 (الشكل 20-4).

ويقـوم إنزيم آخـر (ناقلة الجلوكـان α- glucan transferase ‏[4⟵1]- a ⟵ [1⟵4]) بنقل وحدة ثلاثية السكريد من أحد الفروع إلى الآخر، كاشفاً بذلك نقطة التـفـرع 1⟵6. ويتطلب الانشطار المحلمـه للروابط 1– 6 ، تأثير إنزيم نوعي نازع للتـفـرع (Debranching) (جلوكـوزيداز أمـيلو [1⟵6]). ومع نزع التـفـرع، يمكن للفسفوريلاز أن يواصل تأثيره. ويؤدي التـأثير المشـترك لكل من الفسفـوريلاز وتلك الإنزيمات الأخـرى إلى تحطيم الجليكوجين بالكامل. ويكون التـفـاعل المحـفـز بالفسفوجلوكوموتاز عكوساً، بحيث يمكِّن تشكيل جلوكوز 6 –فسفات من جلوكوز 1 ـ فـسـفـات. ويوجـد في الكبـد (والكليـة)، وليس في العـضـلات، إنزيماً نوعـيـاً هو فسفـاتاز ـ 6 ـ جلوكوز (Glucose-6-phosphatase) التي تقـوم بنزع الفسـفـات من الجلوكوز 6 ـ فسفات، مما يمكن الجلوكوز لأن يتشكل وينتشر من الخلية إلى الدم. وهذه هي الخطوة الأخيرة في سـبيل تحلل الجليكوجين بالكبد، والتي تنعكس على شكل زيادة في جلوكوز الدم.



الشكل 20-4: خطوات تحلل الجليكوجين.

يكامل الـ AMP الحلقي عملية تنظيم تحلل الجليكوجين وتكونه:

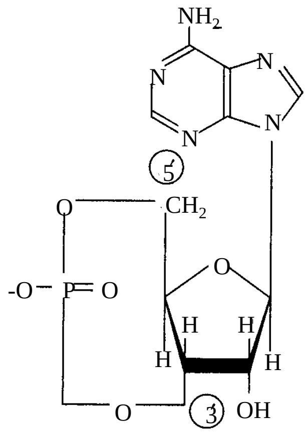
يجري تنظيم الإنزيمات الرئيسة التي تضبط أيض الجليكوجين ـ فسفوريلاز الجليكوجين وسنتاز الجليكوجين ـ بسلسلة معقدة من التفاعلات المتضمنة ألية تفارغية وتعديلات تكافؤية (تساهمية) على حد سواء، وهي ناجمة عن الفسفتة العكوسة ونزع الفسفات للبروتين الإنزيمي (الفصل 11).

ينتج العديد من التعديلات التكافؤية عن تأثير cAMP (3، 5 ـ حمض الأدينيليك الحلقي، أو AMP الحلقي) (الشكل 20-5). والـ cAMP هو المركب المتوسط داخل الخلوي أو المرسال الثاني الذي تعمل من خلاله هرمونات عديدة (الفصل 44). وهو يتشكل من ATP بوساطة إنزيم سيكلاز (محلقة) الأدينيلات (Adenylyl cyclase)، الموجودة في السطح الداخلي للغشاء الخلوي، ويتنشط هذا الإنزيم بعدة هرمونات مثل الإبينفرين (Epinephrine) والنورإبينفرين (Norepinephrine) التي تعمل من خلال مستقبلات β – الأدرينالية الفعل (Adrenergic) على الغشاء الخلوي، ويتنشط كذلك في الكبد بوساطة الجلوكاجون (Glucagon) الذي يعمل من خلال مستقبل مستقل للجلوكاجون. ويتخرب الـcAMP بالفوسفو دي إستراز (Phosphodiesterase)، حيث بفضل فعالية هذا الإنزيم تتم المحافظة على المستوى المنخفض سوياً من الـ cAMP. وقد تبين أن الإنسولين يزيد فعالية هذا الإنزيم في الكبد، وبذلك ينخفض تركيز الـ cAMP.

يختلف الفسفوريلاز بين الكبد والعضلات:

يوجد الإنزيم في الكبد بشكلين فعال وغير فعال أو نشيط وعاطل. وتكون واحدة من زمر الهدركسيل السيرينية في الفسفوريلاز الفعال (الفسفوريلاز a) مفسفتة برابطة إسترية. وبتأثير فسفاتاز نوعية هي الفسفاتاز ـ 1 البروتينية، يتعطل الإنزيم (تنزع فعاليته) ويتحول إلى فسفوريلاز b بتفاعل يتضمن نزع الفسفات بالحلمهة في ثمالة السيرين. وتتطلب إعادته للشكل الفعال أي إعادة فسفتته من جديد بوجود الـ ATP وإنزيم نوعي هو كيناز الفسفوريلاز.

يختلف الفسفوريلاز العضلي مناعياً ووراثياً عن الكبدي. فهو مثنوي (Dimer)، يحوي كل موحد (Monomer) فيه جزيئا واحداً من فسفات البيريدوكسال. وهو يوجد في شكلين: الفسفوريلاز a، الذي يكون مفسفتاً وفعالاً سواء بوجود أو بغياب الـ AMP. (وهو معدله التفارغي)، والفسفوريلاز b، الذي يكون منزوع الفسفات وفعالاً فقط بوجود الـAMP. ويحدث هذا في أثناء التمارين حيث يزداد مستوى الـ cAMP فيؤمن بذلك، عن طريق هذه الآلية، الوقود اللازم للعضلة. والفسفوريلاز a هو الشكل الفعال فيزيولوجياً للإنزيم في الحالة السوية.



الشكل 5-20: ´3، ´5– الأدينيليك (AMP الحلقي؛ cAMP).

ينشط الـ cAMP الفسفوريلاز العضلي:

يتنشط الفسفوريلاز في العضلات بالإبينفرين (الشكل 20-6). لكن لا يحدث ذلك كتأثير مباشر، بل عن طريق تأثير الـ cAMP. وبازدياد تركيز الـ cAMP، يتفعل إنزيم ذو نوعية واسعة نوعاً ما هو كيناز البروتين المعتمد على cAMP) (cAMP- dependent protein kinase، الذي يحفز فسفتة كيناز الفسفوزيلاز b غير الفعال بوجود ATP ليعطي كيناز الفسفوريلاز a الفعال الذي يقوم بدوره، من خلال

المزيد من الفسفتة، بتنشيط الفسفوريلاز b إلى الفسفوريلاز a. يتكون كيناز البروتين المعتمد على cAMP غير الفعال من زوجين من الوحيدات، ويتألف كل زوج من وحيدة منظمة (R) ترتبط بمولين من الـ cAMP، ومن وحيدة تحفيزية (C) تحوي المقر الفعال. ويؤدي الاتحاد مع cAMP إلى تفارق المعقد R_2 C_2 وتحرير المواحيد C الفعالة.

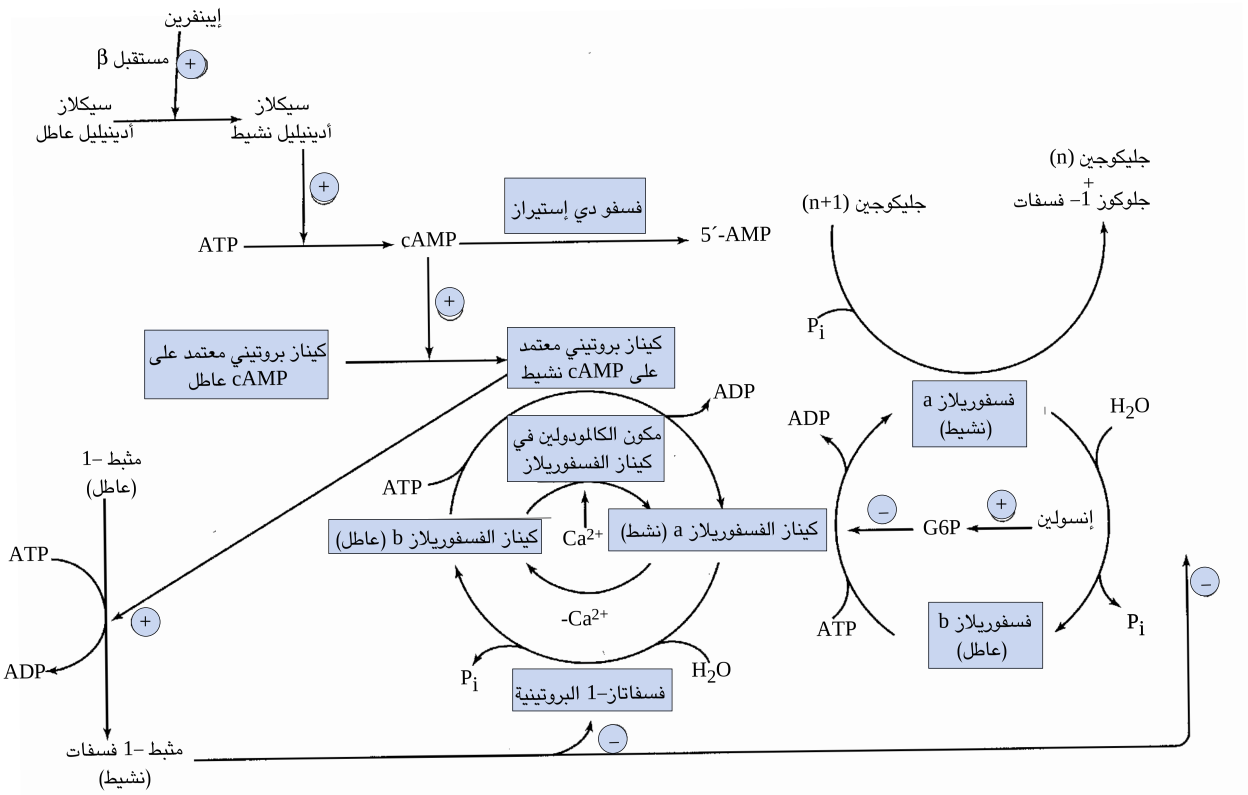
$$R2C2 \quad + \quad 4cAMP \longleftrightarrow 2C \; + \; 2\,(R\text{-}cAMP_2)$$

إنزيم غير فعال　　　　　　إنزيم فعال

يزامن الكالسيوم (Ca^{2+}) تنشيط الفسفوريلاز مع التقلص العضلي:

يزداد تحلل الجليكوجين في العضلات بعدة مئات من الأضعاف مباشرة بعد بداية التقلص. ويتضمن هذا تنشيطاً سريعاً للفسفوريلاز بسبب تنشيط كيناز الفسفوريلاز بوساطة Ca^{2+}، التي هي ذات الإشارة التي تستهل التقلص. ويملك كيناز الفسفوريلاز العضلي أربعة أنماط من الوحيدات– هي α و β و γ و δ ـ في بنية ممثلة بالشكل 4 (α β γ δ).

تحوي الوحيدات α و β ثمالات السيرين التي تفسفت بكيناز البروتين المعتمد على cAMP. وترتبط الوحيدة δ بأربع ذرات Ca^{2+} وتكون مماثلة للبروتين الرابط للكالسيوم أي الكالمودولين (Calmodulin) (الفصل 44). ويؤدي الارتباط بالكالسيوم إلى تنشيط المقر التحفيزي في الوحيدة γ بينما يبقى الجزيء في الشكل منزوع الفسفات b. علاوة على ذلك، يكون الشكل المفسفت a فعالاً بشكل كامل فقط بوجود Ca^{2+}. ومن الأهمية أن يكون الكالمودولين متشابه بنيوياً مع TpC، أي البروتين الرابط للكالسيوم في العضلات. ويمكن لجزيء ثاني من الكالمودولين أو الـTpC أن يتأثر مع كيناز الفسفوريلاز، مؤدياً ذلك إلى مزيد من التنشيط. وعلى هذا الشكل، ينجز تنشيط كل من التقلص العضلي وتحلل الجليكوجين بنفس البروتين الرابط للكالسيوم وهذا يحقق تواقتهما (حدوثهما بالتوقيت نفسه).



الشكل 6-20 : التحكم بالفسفوريلاز في العضلات. يكون تسلسل التفاعلات مرتباً كشلال يسمح بتضخيم الإشارة الهرمونية عند كل خطوة. (n= عدد ثمالات الجلوكوز؛ G6P جلوكوز 6– فسفات).

يمكن أن يكون تحلل الجليكوجين في الكبد غير معتمد على cAMP :

بالإضافة إلى الفعل الأساسي للجلوكاجون المؤدي لتشكل cAMP وتنشيط الفسفوريلاز في الكبد، فقد بينت الدراسات أن المستقبلات α1 هي الوسائط (الوسطاء) (Mediators) الرئيسية لتنبيه تحلل الجليكوجين بالإبينفرين والنورإبينفرين. ويتضمن هذا تحريك الـ Ca^{2+} غير المعتمد على cAMP من المتقدرات إلى العصارة الخلوية، ويليه تنبيه كيناز الفسفوريلاز الحساس للكالمودولين/Ca^{2+}. كما يجري تحلل الجليكوجين غير المعتمد على cAMP بتأثير الڤازوبريسين والأوكسيتوسين والأنجيوتنسين II التي تعمل من خلال الكالسيوم أو سبيل فسفاتيديل الإينوزيتول ثنائي الفسفات (الشكل 44-10).

تعطل الفسفاتاز 1– البروتينية نشاط الفسفوريلاز:

يتعرض كل من الفسفوريلاز a وكيناز الفسفوريلاز a لنزع الفسفات ولتعطيل فعاليتهما بوساطة الفسفاتاز ـ1 البروتينية (Protein phosphatase) التي تتثبط ببروتين يدعى المثبط ـ1 (Inhibitor-1)، والذي يكون فعالاً فقط بعد أن يفسفت بكيناز البروتين المعتمد على cAMP. وبهذا الشكل، يقوم cAMP بضبط كل من تنشيط وتعطيل الفسفوريلاز (الشكل 20-6). ويعزز الإنسولين هذا التأثير عن طريق تثبيط فعاليات الفسفوريلاز b. وهو ينجز هذا العمل بشكل لا مباشر بزيادة قبط الجلوكوز، الذي يؤدي إلى ارتفاع تركيز الجلوكوز 6 – فسفات. حيث أن الجلوكوز 6 – فسفات مثبطٌ قوي لكيناز الفسفوريلاز.

يتم تنظيم فعالية سنتاز الجليكوجين والفسفوريلاز بشكل تبادلي (الشكل 20-7):

يوجد سنتاز الجليكوجين، على غرار الفسفوريلاز، إما في الحالة المفسفتة أو غير المفسفتة. إلا أنه على عكس الفسفوريلاز يكون الشكل الفعال منه هو منزوع الفسفات (سنتاز a جليكوجين) وقد يتعطل (تنزع فعاليته) ويتحول إلى سنتاز b

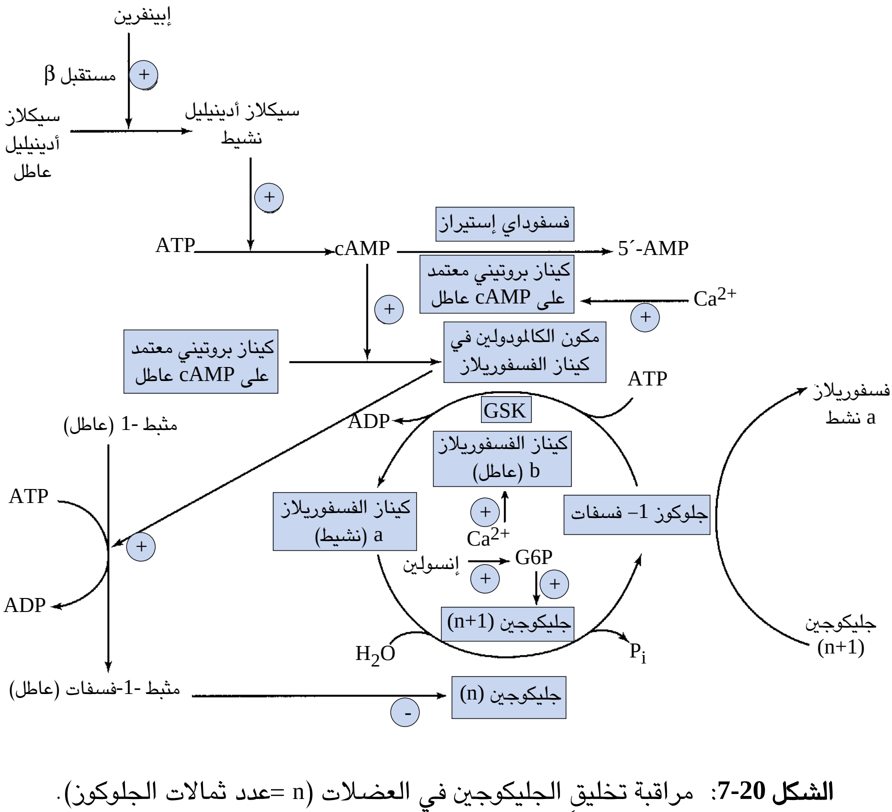
جليكوجين بالفسفتة على سبع ثمالات من السيرين بوساطة ليس أقل من ستة إنزيمات مختلفة من كيناز البروتين. وتوجد كافة مواقع الفسفتة السبع في كل من الوحيدات الأربعة المتماثلة. ويكون اثنان من إنزيمات كيناز البروتين معتمدين على الكالمودولين/ Ca^{2+} (أحدهما هو كيناز الفسفوريلاز). وهناك كيناز آخر هو كيناز البروتين المعتمد على cAMP، الذي يسمح للفعل الهرموني المتوسط بالـcAMP بأن يُثَبَّط تخليق الجليكوجين بشكل متزامن مع تنشيط تحلل الجليكوجين. أما إنزيمات الكيناز الباقية فهي تُعرف بالكيناز 3، و 4، و 5 لسنتاز الجليكوجين. ويحرض الإنسولين كذلك تكون الجليكوجين في العضلات بالوقت نفسه الذي يثبط فيه تحلل الجليكوجين بارتفاع تراكيز جلوكوز 6 – فسفات داخل الخلوي. ويقوم جلوكوز 6 – فسفات بدوره بتنبيه نزع فسفات وتنشيط سنتاز الجليكوجين. ويجري نزع فسفات سنتاز b جليكوجين في الحالة السوية بوساطة الفسفاتاز–1 البروتينية، التي تكون تحت مراقبة كيناز البروتين المعتمد على cAMP (الشكل 20-7).

يتأثر تنظيم أيض الجليكوجين بتوازن الفعاليات بين سنتاز الجليكوجين والفسفوريلاز (الشكل 20-8):

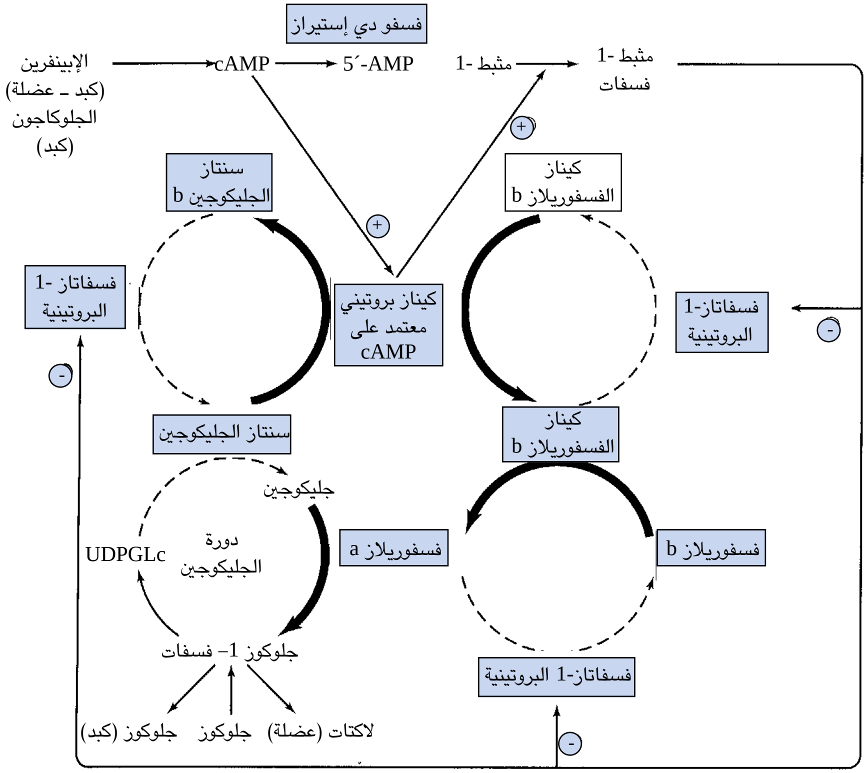
يخضع كل من سنتاز الجليكوجين والفسفوريلاز للتنظيم بوساطة الركيزة (من خلال التفارغ) وكذلك للتنظيم الهرموني ويؤدي ارتفاع تركيز cAMP ليس فقط إلى تنشيط الفسفوريلاز (عن طريق كيناز الفسفوريلاز)، بل أيضاً بالوقت نفسه إلى تحول سنتاز الجليكوجين للشكل غير الفعال، حيث يتوسط كيناز البروتين المعتمد على cAMP كلا التأثرين. وبذلك، فإن تثبيط تحلل الجليكوجين يعزز التكون الصافي للجليكوجين، وتثبيط تكون الجليكوجين يعزز التحلل الصافي للجليكوجين. وتتمخض عن تنظيم أيض الجليكوجين أهمية إضافية، فحيث أن نزع الفسفات من كلٍ من الفسفوريلاز a وكيناز الفسفوريلاز وسنتاز b جليكوجين، تتم بوساطة إنزيم واحد ذي نوعية واسعة هو الفسفاتاز 1– البروتينية، الذي يتثبط بدوره بكيناز البروتين المعتمد على cAMP عن طريق المثبط –1 (الشكل 20-8).

ولذلك يمكن إيقاف تحلل الجليكوجين وتنبيه تكون الجليكوجين بآن واحد، أو

العكس بالعكس، لأن حدوث هاتين العمليتين مرهون بفعالية كيناز البروتين المعتمد على cAMP. ويمكن فسفتة كل من كيناز الفسفوريلاز وسنتاز الجليكوجين بشكل عكس في أكثر من موقع بوساطة إنزيمات كيناز وفسفاتاز مستقلة. حيث تعدل تفاعلات الفسفتة الثانوية هذه من حساسية المواقع الرئيسية تجاه الفسفتة ونزع الفسفات (الفسفتة متعددة المواقع (Multisite phosphorylation). وهي تسمح أيضاً للإنسولين، عن طريق ارتفاع جلوكوز 6–فسفات، بأن يكون له التأثيرات التي تعمل بشكل يعاكس تأثيرات cAMP (الشكلان 20-6 و 20-7).



الشكل 20-7: مراقبة تخليق الجليكوجين في العضلات (n =عدد ثمالات الجلوكوز). يكون تسلسل التفاعلات مرتباً كشلال يسبب تضخيم الإشارة الهرمونية عند كل خطوة مما يسمح بكميات تقدر بالنانومول فقط من الهرمون لأن تحدث تبدلات رئيسية في تركيز الجليكوجين. (GSKz: كيناز سنتاز الجليكوجين –3 و–4 و–5؛ G6p: جلوكوز–6–فسفات).



الشكل 20-8: المراقبة المتناسقة لتحلل الجليكوجين وتكونه بوساطة الكيناز البروتيني المعتمد على cAMP. أظهرت التفاعلات التي تؤدي إلى تحلل الجليكوجين كنتيجة لزيادة تراكيز الـ cAMP لأسهم ثخينة غامقة اللون، وتلك التفاعلات التي تتثبط بتنشيط الفسفاتاز –1 البروتينية بأسهم متقطعة.

تجري التفاعلات المعكسية عندما تتناقص تراكيز cAMP بتأثير فعالية الفسفو دي إستيراز، مما يؤدي إلى تكون الجليكوجين.

المظاهر السريرية:

أدواء تخزين الجليكوجين هي أمراض وراثية:

«داء تخزين الجليكوجين» (Glycogen storage disease) هو مصطلح شامل المقصود منه وصف مجموعة من الاضطرابات الوراثية التي تتميز بترسب نمط شاذ أو كمية من الجليكوجين في الأنسجة. ويوجز (الجدول 20-2) الأمراض الجليكوجينية الأساسية. وتبين أيضاً ضلوع عوز كل من كيناز الأدينيليل وكيناز البروتين المعتمد على cAMP في ذلك. وقد استفادت بعض الحالات الموصوفة في الجدول من زرع الكبد كعلاج.

الخلاصة:

1 – يمثل الجليكوجين الشكل الادخاري الأساسي للسكريات في أجسام الثدييات. ويوجد بشكل رئيسي في الكبد والعضلات.

2 – وظيفته الرئيسة في الكبد هي خدمة باقي الأنسجة عن طريق تشكيل جلوكوز الدم. أما في العضلات فهو يوفر احتياجات هذا العضو فقط، كمصدر سهل للوقود الأيضي.

3 – يتركب الجليكوجين من الجلوكوز وطلائع أخرى بسبيل تكون الجليكوجين. وهو يتحطم بسبيل مستقل يعرف بتحلل الجليكوجين. ويؤدي تحلل الجليكوجين إلى تشكيل الجلوكوز في الكبد ولتشكيل اللاكتات في العضلات بسبب وجود أو غياب الفسفاتاز –6– جلوكوز الخصوصي.

4 – يكامل cAMP تنظيم تحلل الجليكوجين وتكون الجليكوجين بتحريض تنشيط الفسفوريلاز وتثبيط سنتاز الجليكوجين بآن واحد. ويؤثر الإنسولين بشكل معاكس عن طريق تثبيط تحلل الجليكوجين وتنبيه تكون الجليكوجين.

5 – إن حالات العوز الوراثية في إنزيمات نوعية بأيض الجليكوجين بكل من الكبد والعضلات هي التي تسبب أدواء تخزين الجليكوجين.

الداء الجليكوجيني	الاسم	سبب الاضطراب	الصفات
النمط I	داء فون جيركه von Gierke's D.	عوز جلوكوز –6– فسفاتاز	تكون الخلايا الكبدية وخلايا الأنابيب الكلوية مملوءة بالجليكوجين. نقص سكر الدم، حماض لبني في الدم، فرط الكيتون في الجسم (Ketosis)، فرط دهن الدم.
النمط II	داء بومبة.Pompe's D	عوز جلوكوزيداز a-1 4 و 1 6 الجسيمات الحالة (المالتاز الحامضي)	مميت، تراكم الجليكوجين في الجسيمات الحالة، قصور القلب
النمط III	Limit dextrinosis الداء الدكستريني المحدود؛ داء فوربز أو كوري Forbes' or Cori's D.	غياب الإنزيم نازع التفرع	تراكم عديدات سكريد متفرعة مميزة
النمط IV	الداء الأميلوبكتيني؛ داء أندرسن Andersen's D.	غياب إنزيم التفرع	تراكم عديدات سكريد فيها بضع نقاط تفرع. موت ناجم عن قصور في القلب أو الكبد في السنة الأولى من الحياة.
النمط V	عوز ميوفسفوريلاز (الفسفوريلاز العضلي) متلازمة ماك أردل Mc Ardel's S.	غياب الفسفوريلاز العضلي	تحمل محدود للتمارين، بالعضلات محتوى عالٍ على نحو غير سوي من الجليكوجين (2.5-4٪) قليل من اللاكتت في الدم بعد التمارين أو لا توجد.
النمط VI	داء هِرز Hers'D.	عوز الفسفوريلاز الكبدي	محتوى عال من الجليكوجين في الكبد، ميل باتجاه نقص سكر الدم.
النمط VII	داء تاروي Tarui's D.	عوز الفسفوفركتوكيناز في العضلات والكريات الحمر	كما في النمط V، لكن هنا أيضاً احتمال الإصابة بفقر الدم الانحلالي.
		عوز كيناز الفسفوريلاز الكبدي	كما في النمط VI

الجدول 2-20: أدواء تحزين الجليكوجين.

*** References:**

Cohen P: *Control of Enzyme Activity*, 2nd ed. Chapman & Hall,1983.

Cohen P: The role of protein phosphorylation in the hormonal control of enzyme activity. *Eur J Biochem* 1985;151:439.

Ercan N, Gannon MC, Nuttall FQ: Incorporation of glycogenin into a hepatic proteoglycogen after oral glucose administration. *J Biol Chem* 1994;269:22328.

Exton JH: Molecular mechanisms involved in α-adrenergic responses. *Mol Cell Endocrinol* 1981;23:233.

Geddes R: Glycogen: A metabolic viewpoint. *Bioscience Rep* 1986;6:415.

Randle PJ, Steiner DF, Whelan WJ (editors): *Carbohydrate Metabolism and Its Disorders,* vol 3. Academic Press, 1981.

Raz 1, Katz A, Spencer MK: Epinephrine inhibits insulinmediated glycogenesis but enhances glycolysis in human skeletal muscle. *Am J Physiol* 1991 ;260:E430.

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed. McGraw-Hill, 1995.

Selby R et al: Liver transplantation for type IV glycogen storage disease. *N Engl J Med* 1991;324:39.

Villar-Palasi C: On the mechanism of inactivation of muscle glycogen phosphorylase by insulin. *Biochim Biophys Acta* 1994;1224:384.

الفصل الحادي والعشرون

استحداث السكر والتحكم في جلوكوز الدم

Gluconeogenesis and Control of the Blood Glucose

مقدمة:

يستخدم مصطلح استحداث السكر للدلالة على كافة الآليات والسبل المسؤولة عن تحويل الركائز غير السكرية إلى جلوكوز أو جليكوجين. حيث أن الركائز الأساسية لاستحداث السكر هي الأحماض الأمينية المولدة للسكر واللاكتات والجليسرول والبروبيونات. والأنسجة الرئيسية المساهمة هى الكبد والكلية، لأنهما يحويان المجموعة الكاملة من الإنزيمات الضرورية.

الأهمية الطبية البيولوجية:

يلبي استحداث السكر احتياجات الجسم من الجلوكوز عندما لا تتوافر السكريات بكميات كافية في الغذاء. ويعد التزويد المستمر بالجلوكوز أمراً ضرورياً كمصدر للطاقة، بخاصة للجهاز العصبى والكريات الحمراء. ويكون الإخفاق باستحداث السكر مميتاً عادة. وعند انخفاض تركيز جلوكوز الدم لأقل من الحرج، يحدث في الدماغ خلل وظيفي، الذي يمكن أن يؤدي إلى السبات والموت. ويحتاج النسيج الشحمي للجلوكوز أيضاً كمصدر للجليسيريد ـ جليسرول، وهو يلعب على

الأرجح دوراً في المحافظة على مستوى متوسطات دورة حمض السيتريك في الكثير من الأنسجة. ومن الواضح أنه حتى في تلك الظروف التي يؤمن الدهن فيها معظم الحاجة الطاقية للكائن الحي، فإنه توجد دائماً حاجة أساسية معينة من الجلوكوز. فالجلوكوز هو الوقود الوحيد الذي يؤمن الطاقة للعضلات الهيكلية في الشروط اللاهوائية. وهو طليعة سكر الحليب (اللاكتوز) في الغدة الثديية، كما أنه يؤخذ بفاعلية من قبل الجنين. إضافةً إلى ذلك، تستخدم آليات استحداث السكر لإزالة نواتج أيض الأنسجة الأخرى من الدم، مثل اللاكتات المنتج بالعضلات والكريات الحمراء، والجليسرول الذي ينتج باستمرار بالنسيج الشحمي. وتعد البروبيونات الحـمض الدهني الأسـاسي المولِّد للسكر وهو ينتج عن هضم السكريات عند المجترات وهو الركيزة الأساسية لاستحداث السكر في هذه الأنواع الحيوانية.

يشتمل استحداث السكر على تحلل السكر ودورة حمض السيتريك مع بعض التفاعلات الخاصة (الشكل 21-1).

تمنع الحوائل الثيرموديناميكية الانعكاس البسيط لتحلل السكر:

أشار العالم كريبس (Krebs) إلى أن الحواجز الطاقية تعيق انعكاس جهة جريان سبيل تحلُّل السكر بين البيروفات وفسفوإينول بيروفات، وبين فركتوز 6,1 ـ ثنائي فسفات وفركتوز – 6 فسفات، وبين جلوكوز 6 – فسفات والجلوكوز، وبين جلوكوز 1– فسفات والجليكوجين. حيث أن جميع هذه التفاعلات هي غير متوازنة وتحرر الكثير من الطاقة الحرة على شكل حرارة، وبالتالي فهي غير عكسية فيزيولوجياً. ويمكن تجاوزها بالدوران حولها بوساطة تفاعلات خاصة.

(1) – البيروفات والفسفوإينول بيروفات. يوجد في المتقدرات (Mitochondria) إنزيم هو كربوكسيلاز البيروفات الذي يقوم، بوجود كل من ATP وفيتامين البيوتين (B_8) و CO_2، بتحويل البيروفات إلى أكسالوأسيتات. وتتلخص وظيفة البيوتين بربط CO_2 من البيكربونات بالإنزيم قبل أن تتم إضافة CO_2 إلى البيروفات (الشكل 52-13). والإنزيم الثاني هو كربوكسي كيناز فسفوإينول بيروفات الذي يُحَفِّز تحول الأكسالوأسيتات إلى فسفوإينول بيروفات. ويتطلب هذا التفاعل فسفات عالية الطاقة في شكل GTP أو ITP، ويتحرر الـ CO_2. وبهذا الشكل، وبمساعدة هذين الإنزيمين

المحفزين لتفاعلي تحول آخذين (ماصين) للطاقة وكذلك نازعة هيدروجين اللاكتات، يمكن تحويل اللاكتات إلى فسفوإينول بيروڤات، والتغلب على الحاجز الطاقي بين البيروڤات والفسفو إينول بيروڤات.

يكون كربوكسي كيناز الفسفوإينول بيروڤات إنزيماً متقدرياً في أكباد الحمامة والدجاجة والأرنب، وتنقل الفسفوإينول بيروڤات إلى العصارة الخلوية لتتحول إلى فركتوز 1، 6– ثنائي الفسفات بانعكاس سبيل تحلل السكر. أما في الجرذ والفأر فإن الإنزيم يتوضع في العصارة الخلوية، وهذا يخلق مشكلة لأن الأكسالوأسيتات لا تنتشر عبر الغشاء المتقدري الداخلي. ويمكن التغلب على ذلك بتحويل الأكسالو أسيتات إلى مالات التي تستطيع الانتقال إلى العصارة الخلوية، حيث تتحول هناك ثانية إلى أكسالو أسيتات بوساطة نازعة هيدروجين المالات خارج المتقدرية. ويتوزع الإنزيم بالتساوي ما بين العصارة الخلوية والمتقدرات عند الإنسان والبقرة وخنزير غينيا.

(2) الفركتوز 1، 6 – ثنائي فسفات والفركتوز 6– فسفات. إن تفاعل تحول الفركتوز 1، 6 – ثنائي الفسفات إلى الفركتوز 6 – فسفات ضروري لتحقيق انعكاس تحلل السكر، وهو يحفز بإنزيم خاص هو 1، 6 ثنائي فسفاتاز الفركتوز. وهو إنزيم أساسي، من وجهة نظر أخرى، ذلك أن وجوده هو الذي يحدد فيما إذا كان النسيج قادراً أم لا على تخليق الجليكوجين ليس فقط من البيروفات بل وأيضاً من مركبات فسفات التريوز. ويوجد هذا الإنزيم في الكبد والكلية، كما تبين وجوده في العضلات المخططة. ويبدو أنه لا يوجد في العضلات الملساء وعضلة القلب.

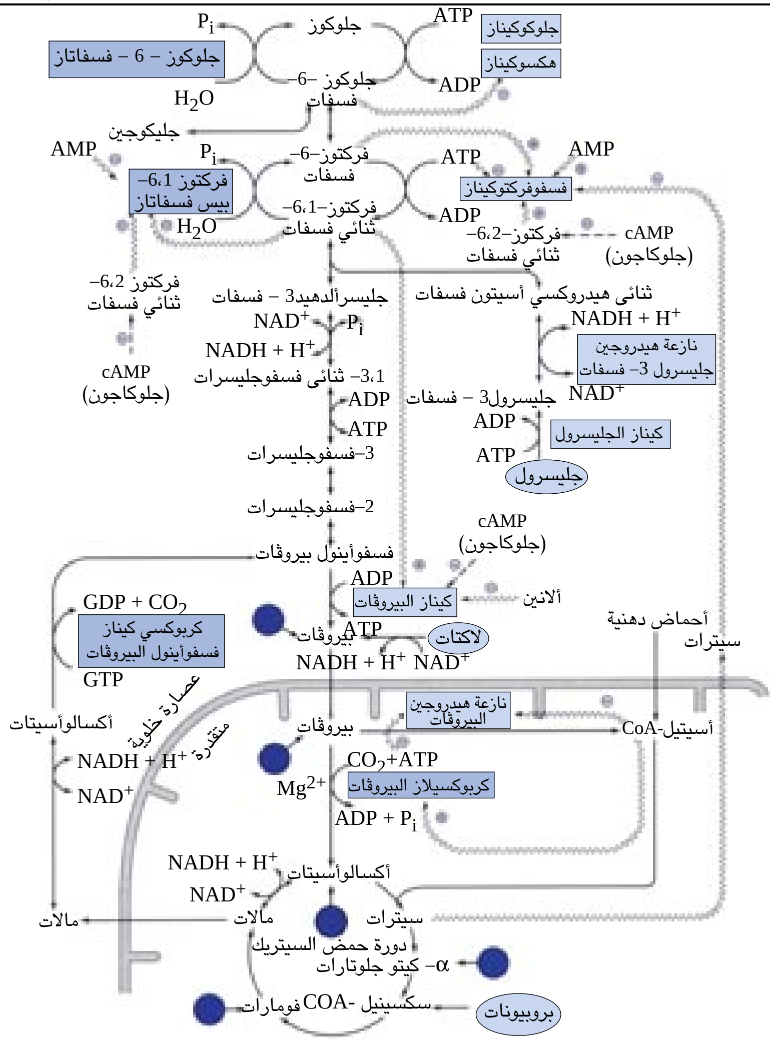
(3) الجلوكوز 6 – فسفات والجلوكوز. يحفز تحول الجلوكوز 6– فسفات إلى الجلوكوز بإنزيم فسفاتاز نوعي آخر هو فسفاتاز 6 – الجلوكوز. الذي يوجد في الكبد والكلية ويغيب من العضلات والنسيج الدهني. ويسمح وجوده للنسيج بأن يعطي الجلوكوز إلى الدم.

(4) الجلوكوز 1– فسفات والجليكوجين. ينجز تحطيم الجليكوجين إلى الجلوكوز 1– فسفات بوساطة إنزيم الفسفوريلاز. أما تخليق الجليكوجين فهو يتضمن سبيلاً مختلفاً تماماً من خلال تشكيل جلوكوز ثنائي فسفات اليوريدين وفاعلية سنتاز الجليكوجين (الشكل 20-1). وتسمح هذه الإنزيمات الأساسية لانعكاس تحلل السكر

بأن يلعب دوراً رئيسياً في استحداث السكر. ويعرض (الشكل 21-1) العلاقة القائمة بين استحداث السكر وسبيل تحلل السكر. فبعد نقل الأمين أو نزعه، تشكل الأحماض الأمينية المولدة للسكر إما البيروفات و إما عناصر من دورة حمض السيتريك. وبهذا الشكل، يمكن للتفاعلات الموصوفة أعلاه أن تكون مسؤولة عن تحول كل من الأحماض الأمينية المولدة للسكر واللاكتات إلى الجلوكوز أو الجليكوجين. وبناء عليه تقوم اللاكتات بتشكيل البيروفات التي يجب أن تدخل للمتقدرات قبل أن تتحول إلى الأكسالو أسيتات والتحول النهائي إلى الجلوكوز.

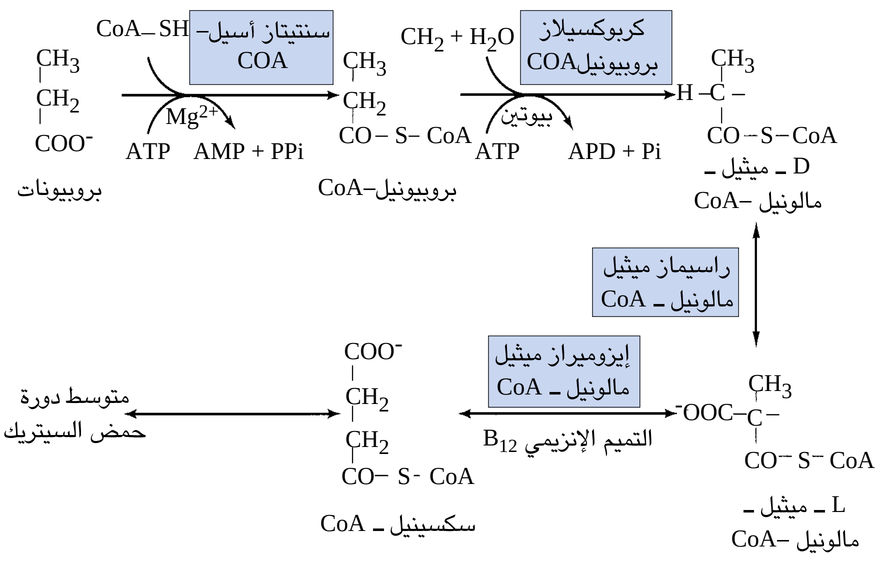
تعد البروبيونات مصدراً رئيسياً للجلوكوز عند المجترات وهي تدخل السبيل الرئيس لاستحداث السكر عن طريق دورة حمض السيتريك بعد تحولها إلى سكسينيل -CoA. ويتم أولاً تنشيط البروبيونات بوجود ATP وCoA وسنتيتاز أسيل -CoA مناسب، ثم يخضع ناتج هذا التفاعل، بروبيونيل -CoA لتفاعل تثبيت CO_2، فيتشكل -D ميثيل مالوثيل -CoA بتحفيز كربوكسيلاز البروبيونيل -CoA (الشكل 21-2). ويشابه هذا التفاعل تفاعل تثبيت الـ CO2في أسيتيل -CoA بوساطة كربوكسيلاز أسيتيل -CoA (الفصل 23) في أنه يشكل مشتق المالونيل وأنه يتطلب ڤيتامين البيوتين كتميم إنزيمي ثم يجب أن يتحول -D ميتيل مالونيل -CoA إلى مصاوغه الفراغي L– ميتيل مالونيل -CoA بوساطة راسيماز ميتيل مالونيل -CoA، الذي يتطلب الڤيتامين B_{12} كتميم إنزيمي. لذلك فإن عوز B_{12} عند الإنسان والحيوان يؤدي إلى إفراغ كميات كبيرة من الميتيل مالونات (بيلة حمض ميثيل مالونيك Methylmalonic aciduria).

على الرغم من أن السبيل إلى السكسينات هو الطريق الأساسي لأيض البروبيونات، إلا أنه يمكن استخدامها أيضاً كجزيء بادئ (مشرع) لتخليق ـ في النسيج الشحمي وغدة الثدي ـ الأحماض الدهنية ذات العدد المفرد من ذرات الكربون في الجزيء. وتوجد الأحماض الدهنية ذات الـ C_{15} و C_{17} بشكل خاص ضمن شحميات المجترات. حيث أنها تشكل مصدراً مهماً لهذه الأحماض الدهنية في غذاء الإنسان وهي تتحطم في النهاية لتعطي البروبيونات في الأنسجة (الفصل 24).



الشكل 21-1 : السبل الرئيسة في استحداث السكر وتحلله وتنظيمها في الكبد. أشير إلى نقاط دخول الأحماض الأمينية المكونة للجلوكوز بعد نقل الأمين بأسهم ممتدة من دوائر. (انظر أيضاً الشكل 18-4). تكون الإنزيمات الأساسية في استحداث السكر موضوعة ضمن مستطيلات مزدوجة الحافة. يؤمن الـ ATP اللازم لاستحداث السكر من أكسدة الأحماض الدهنية طويلة السلسلة. تحظى البروبيونات بأهمية كمية عند المجترات فقط. تشير الأسهم المتموجة إلى التأثيرات التفارغية؛ والأسهم المتقطعة إلى التعديل التكافؤي (التساهمي) بوساطة الفسفتة العكسية. تعمل التراكيز المرتفعة من الألانين كإشارة لاستحداث السكر عن طريق تثبيط تحلُّل السكر عند خطوة كيناز البيروڤات.

الجليسرول هو ناتج عن الأيض في النسيج الشحمي، وتستطيع استعماله فقط تلك الأنسجة التي تملك الإنزيم المنشِّط؛ كيناز الجليسرول (Glycerol kinase)، وهو إنزيم يحتاج لـ ATP ويوجد في الكبد والكلية من بين باقي الأنسجة. ويحفز كيناز الجليسرول تحول الجليسرول إلى جليسرول –3 فسفات. حيث يتصل هذا السبيل مع مراحل فسفات التريوز في سبيل تحلل السكر، لأنه قد يؤكسد الجليسرول 3– فسفات إلى ثنائي هيدروكسي الأسيتون فسفات بوساطة +NAD وبوجود نازعة هيدورجين الجليسرول 3– فسفات. ويكون كل من الكبد والكلية قادراً على تحويل الجليسرول إلى جلوكوز للدم باستعمال الإنزيمات المذكورة أعلاه وبعض إنزيمات تحلل السكر وإنزيمات معينة من سبيل استحداث السكر هي 1، 6 ثنائي فسفاتاز الفركتوز وفسفاتاز الجلوكوز– 6 (الشكل 21-1).



شكل 21-2: أيض البروبيونات.

بما أن تحلل السكر واستحداثه يتشاطران ذات السبيل لكن في اتجاهين متعاكسين، فلا بد أنهما يخضعان للتنظيم بشكل تبادلي:

تكون التبدلات في توافر الركائز إما مباشرة أو غير مباشرة وهي مسؤولة عن أغلب التغيرات الطارئة على الأيض. وتنجم تقلبات تراكيزها في الدم عن التبدلات في نوعية الغذاء وهي قد تغير معدل إفراز الهرمونات، التي تؤثر بدورها في نمط أيض السبل الأيضية، غالباً بالتأثير في فعالية الإنزيمات الأساسية التي تحاول التعويض عن التبدل الأولي الحاصل في إتاحية الركيزة. وقد تم تحديد ثلاثة أنماط من الآليات المسؤولة عن تنظيم فعالية الإنزيمات المتعلقة بأيض السكريات، ويمكن التعرف إليها من خلال (الجدول 21-1) وهي: (1) تبدلات في معدل تخليق الإنزيم، (2) التعديل التكافؤي (التساهمي) بالفسفتة العكسية، و (3) تأثيرات تفارغية.

يتطلب تحريض وكظم تخليق الإنزيمات الأساسية عدة ساعات من الزمن:

يبين (الجدول 21-1) بعض التبدلات (التي جرى توثيقها بشكل جيد) الطارئة على الفعالية الإنزيمية، والتي تحدث في شروط أيضية مختلفة. حيث تنطبق المعلومات في هذا الجدول على الكبد بشكل رئيسي. وتحفز الإنزيمات المشاركة التفاعلات غير المتوازنة التي يمكن النظر إليها من الناحية الفيزيولوجية على أنها تفاعلات باتجاه واحد بدلاً من تفاعلات متوازنة. وغالباً ما تكون التأثيرات أكثر قوة لأن فعالية الإنزيمات المحفزة للتبدلات في الاتجاه المعاكس تتفاوت بشكل عكسي (الشكل 21-1). ومن الأهمية أن تكون الإنزيمات الأساسية المساهمة في السبيل الأيضي نشيطة أو مكبوتة بأسلوب متناسق. ويتبين لنا بوضوح من (الجدول 21-1) أن هذا ما يحدث فعلاً. وتصبح جميع الإنزيمات المشاركة في استعمال الجلوكوز (مثل تلك التي في تحلل السكر وتكون الشحم) أكثر نشاطاً عندما يكون هناك فيض من الجلوكوز، في حين أنه في هذه الظروف تكون الإنزيمات المسؤولة عن إنتاج الجلوكوز بسبيل استحداث السكر منخفضة الفعالية. ويعزز إفراز الإنسولين،

المستجيب لازدياد تركيز جلوكوز الدم، تخليق الإنزيمات الأساسية في سبيل تحلل السكر. كما أنه وبطريقة مماثلة يعاكس تأثير كل من القشرانيات السكرية والـ cAMP المنبه بالجلوكاجون، التي تحرض تخليق الإنزيمات الأساسية المسؤولة عن استحداث السكر. ويمكن منع كل هذه التأثيرات بعوامل تستطيع محاصرة تخليق البروتين، مثل البيوروميسين (Puromycin) والإتيونين (Ethionine). ولقد تم توضيح كيفية تنظيم أنواع الـ mRNA الخاصة بهذه الإنزيمات وتعديل تعبير جيناتها.

يمكن تصنيف نازعتي الهيدروجين في سبيل فسفات البنتوز كإنزيمات تلاؤمية، لأنه تزداد فعاليتهما عند الحيوان جيد التغذية، وكذلك عندما يعطى الإنسولين للحيوان المصاب بداء السكري. وتكون الفعالية منخفضة بداء السكري أو في الصيام. ويسلك كل من إنزيم الماليك ولياز السيترات المعتمد على الـ ATP سلوكاً متماثلاً، مما يشير إلى أن هذين الإنزيمين يميلان للاشتراك في تكوُّن الشحم أكثر من اشتراكهما في استحداث السكر (الفصل 23).

يكون التعديل التكافؤي سريعاً بوساطة الفسفتة العكسية:

يقوم الجلوكاجون، وبدرجة أقل الإبينفرين، وهما هرمونان يستجيبان لتناقص جلوكوز الدم، بتثبيط تحلل السكر وتنبيه استحداثه في الكبد عن طريق زيادة تركيز cAMP. وهذا بدوره ينشط كيناز البروتين المعتمد على cAMP، مما يؤدي إلى فسفتة كيناز البيروفات وتعطيله (نزع نشاطه) كما أنهما يؤثران في تركيز الفركتوز 2، 6 ثنائي الفسفات وبناء عليه في تحلل السكر واستحداثه كما هو مشروح أدناه.

الجدول 21-1: الإنزيمات المنظمة والتلاؤمية عند الجرذ (الكبد بشكل رئيسي).

	الفعالية في		المحرض	الكاظم	المنشط	المثبط
	التغذية بالسكريات	الجوع ودواء السكري				
إنزيمات تكون السكر وتحلل السكر وأكسدة البيروفات						
نظام سنتاز الجليكوجين	↑	↓	الإنسولين	الجلوكاجون (cAMP)	الإنسولين 6– فسفات الجلوكوز (1)	الجلوكاجون (cAMP) الفسفوريلاز، الجليكوجين
الهكسوكيناز	↑	↓	الإنسولين	الجلوكاجون (cAMP)		
فسفوفركتوكيناز–1	↑	↓	الإنسولين		AMP، فركتوز6– فسفات،Pi، فركتوز 6،2 ثنائي الفسفات (1)	سيترات (أحماض دهنية، أجسام كيتونية)(1) ،ATP(1)، جلوكاجون، (cAMP)
كيناز البيروفات	↑	↓	الإنسولين، الفركتوز	الجلوكاجون (cAMP)	فركتوز1،6– ثنائي فسفات (1)، الإنسولين	ATP، آلانين، جلوكاجون (cAMP)، إبنفرين
نازعة هيدروجين البيروفات	↑	↓			CoA، +NAD، الإنسولين (2)، ADP، البيروفات	أسيتيل -CoA، NADH، ATP، (أحماض دهنية، أجسام كيتونية)
إنزيمات تكون السكر وتحلل السكر وأكسدة البيروفات						
كربوكسيلاز البيروفات	↓	↑	القشرانيات السكرية الجلوكاجون3– الابينفرين(cAMP)	الإنسولين	أسيتيل -CoA (1)	(1) ADP
بيروفات كربوكسي كيناز الفسفوإينول	↓	↑	القشرانيات السكرية، الجلوكاجون الإبينفرين (cAMP)	الإنسولين	الجلوكاجون	
ثنائي الفسفاتاز 6-1 الثنائية	↓	↑	القشرانيات السكرية الجلوكاجون الابينفرين (cAMP)	الإنسولين	الجلوكاجون (cAMP)	
فسفاتاز الجلوكوز -6	↓	↑	القشرانيات السكرية الجلوكاجون الإبينفرين (cAMP)	الإنسولين		

(1) = تفارغياً .(2) = في النسيج الشحمي وليس في الكبد.

	الفعالية في		المحرض	الكاظم	المنشط	المثبط
	التغذية بالسكريات	الجوع ودواء السكري				
إنزيمات سبيل البنتوزفسفات وتكون الشحم						
نازعة هيدروجين جلوكوز، 6– فسفات	↑	↓	الإنسولين			
نازعة هيدروجين6 فسفوجلوكونات	↑	↓	الإنسولين			
إنزيم الماليك	↑	↓	الإنسولين			
لياز السيترات المعتمد على ATP	↑	↓	الإنسولين			ADP
أسيتيل كربوكسيلاز CoA	↑	↓	الإنسولين		السيترات (1)، الإنسولين	أسيل -CoA طويل السلسلة،CoA، cAMP، الجلوكاجون
سنتاز الأحماض الدهنية	↑	↓	الإنسولين			

يكون التعديل التفارغي سريعاً أيضاً:

تتوافر أمثلة عديدة من سبل أيض السكريات توضح التحكم التفارغي بفاعلية الإنزيم. ففي استحداث السكر، يتطلب تفاعل تخليق الأكسالوأسيتات من البيكربونات والبيروفات المُحفَّز بكربوكسيلاز البيروفات، وجود أسيتيل -CoA كمنشط تفارغي (Allosteric activator). وتؤدي إضافة الأسيتيل -CoA إلى تغير في البنية الثالثية للبروتين، فتنخفض قيمة K_m الخاصة بالبيكربونات. ولهذا التأثير مدلولات مهمة بالنسبة للتنظيم الذاتي للأيض المتوسط، فهو، بما أن الأسيتيل -CoA يتشكل من البيروفات، يضمن توفير الأكسالوأسيتات بشكل تلقائي، وبناء عليه،

أكسـدتها التـاليـة في دورة حـمض السـيـتـريك، عن طريق تنشـيط كـربوكسـيـلاز البيروڤات. إن تنشيط كربوكسيلاز البيروڤات والتثبيط التبادلي لنازعة هيدروجين البيروڤات بـأسيتيل -CoA المشتق من أكسدة الأحماض الدهنية، يساعد في شرح تأثير أكسدة الأحماض الدهنية في تحجيم أكسدة البيروڤات وفي تنبيه استحداث السكر في الكبد. من جـانب آخر، تؤدي العـلاقة التبـادلية (العكسـيـة) القـائمة بين فاعلية نازعة هيدروجين البيروڤات وكربوكسيلاز البيروڤات في كل من الكبد والكلية إلى تغير المصير الأيضي للبيروڤات، حيث تتبدل غاية النسيج من أكسدة السكريات عن طريق تحلل السكر، إلى استحداث السكر في أثناء الانتقال من حالة الشبع إلى حالة الجوع (الشكل 21-1). ويتخلص الدور الرئيس لأكسدة الأحماض الدهنية في تحـريض اسـتحـداث السـكر لتـأمين الـ (ATP) اللازم في تفـاعـلات كـربوكسـيـلاز البـيروڤـات وكربوكسـي كيناز الفسـفوإينول بيروڤـات وكـذلك لعكس تفـاعل كـيناز الفسفوجليسرات في سبيل تحلل السكر.

والإنزيم الأخـر الخـاضـع للتـحكم بالتلقـيم الراجع هو فـسـفـوفـركـتـوكـيناز (فسفوفركتوكيناز –1)، وهو يشغل موقعاً أساسياً في تنظيم تحلُّل السكر. ويتثبط الفسـفوفركتـوكيناز–1 بالسـيـترات وبالـ (ATP) في حين يتنشط بالـ (AMP) الذي يعمل كمشـعـر لحالة الطاقـة في الخلية. ويسـمح وجود كيناز الأدينيليل في الكبد وربما في أنسجة أخرى بحدوث توازن سريع للتفاعل:

$$ATP + AMP \longleftrightarrow 2\ ADP$$

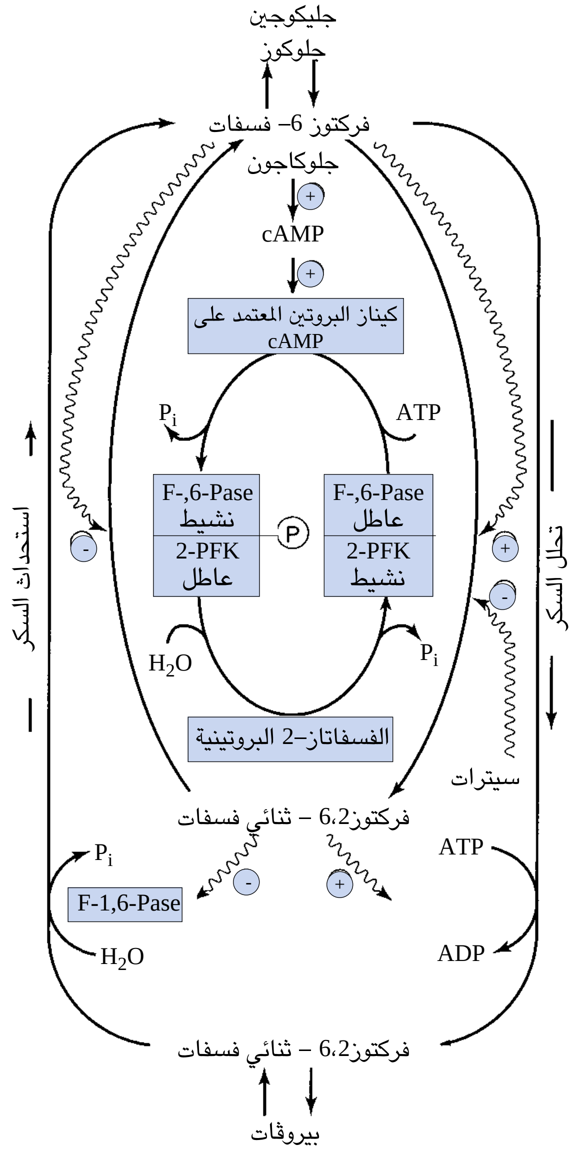
وبهـذا الشكل، فـعندمـا يسـتخـدم الـ ATP في العـمليـات المتطلبـة للطاقـة المؤدية لتشكيل الـ ADP، فإنه ترتفع قيمة [AMP]، وبما أن [AoTP] قد يكون أكبر بـ 50 مرة من الـ [AMP] عند التوازن، فإن حدوث أي انخفاض جزئي ضئيل في [ATP] سـيـؤدي إلى زيادة الـ [AMP] عـدة أضـعـاف. وبذلك، فـإن التـبـدل الكبـيـر في الـ [AMP] يعمل كمضخم أيضي للتبدل البسيط الحادث في الـ [ATP]. وتسمح هذه الآلية لفعـالية الفسـفوفركتوكيناز –1 بأن تكون ذات حسـاسـية عـالية حتى تجـاه التبدلات الضـئيلة الطارئة على حالة الطاقة في الخلية، وكذلك بأن تتـحكم بكمـية السكريات الخـاضـعـة لتحلل السكر قبل دخولها لدورة حـمض السـيـتـريك. ويمكن

للزيادة في الـ [AMP] أن تفسر أيضاً لماذا يزداد تحلل السكر في أثناء عوز الأكسجين عندما يتناقص الـ [ATP]. ويقوم الـ [AMP] بتنشيط الفسفوريلاز، مؤدياً في الوقت نفسه لزيادة تحلل الجليكوجين. وإن تثبيط الفسفوفركتوكيناز -1 بالسيترات وال ATP هو تفسير آخر لتأثير أكسدة الأحماض الدهنية الذي يحد من أكسدة الجلوكوز (يحجمه) ولتأثير باستور (Pasteur effect) أيضاً، الذي تقوم من خلاله الأكسدة الهوائية (عن طريق دورة حمض السيتريك) بتثبيط تدرك الجلوكوز لاهوائيا. وينجم عن تثبيط الفسفوفركتوكيناز -1 تراكم الجلوكوز 6- فسفات، الذي يثبط بدوره مواصلة قبط الجلوكوز في الأنسجة خارج الكبد، عن طريق التثبيط التفارغي للهكسوكيناز.

يلعب الفركتوز 2، 6 ـ ثنائي الفسفات دوراً منفردا في تنظيم تحلل السكر واستحداثه في الكبد

يعد الفركتوز 2، 6 – ثنائي الفسفات هو المنشط التفارغي الإيجابي الأكثر قوة للفسفوفركتوكيناز 1 ، والأمر نفسه بالنسبة له كمثبط 1- 6 فسفاتاز الفركتوز في الكبد. فهو يزيح التثبيط عن الفسفوفركتوكيناز- 1 الناجم عن الـ ATP، ويزيد الألفة للفركتوز 6- فسفات. كما أنه يثبط 1–6 ثنائى فسفاتاز الفركتوز بزيادة قيمة K_m لأجل الفركتوز -1، 6 ثنائي الفسفات. ويكون تركيزه خاضعاً للتنظيم من قبل الركيزة (تفارغي) والهرموني (تعديل تكافؤي) على حد سواء (الشكل 21-3).

يتشكل الفركتوز 2، 6- ثنائي الفسفات بفسفتة الفركتوز 6- فسفات بوساطة فسفوفركتو كيناز- 2. وهو البروتين الإنزيمي ذاته المسؤول أيضاً عن تحطيمه، لأنه يمتلك فاعلية 2 – 6 ثنائى فسفاتاز الفركتوز. ويخضع هذا الإنزيم ثنائي الوظيفة (Bifunctional) للتحكم التفارغي من قبل الفركتوز 6- فسفات، الذي يقوم، عندما يرتفع تركيزه بسبب وفرة الجلوكوز كما في حالة التغذية الجيدة، بتنبيه الكيناز وتثبيط الفسفاتاز. ومن جانب آخر، فعندما يكون هناك نقص بالجلوكوز، ينبه الجلوكاجون إنتاج cAMP، المؤدي لتنشيط كيناز البروتين المعتمد على cAMP، والذي يقوم بدوره بتعطيل الفسفوفركتوكيناز -2 وتنشيط 2- 6 ثنائى فسفاتاز الفركتوز عن طريق الفسفتة.



شكل 3-21: مراقبة تحلُّل واستحداث السكر في الكبد بوساطة فركتوز 2، 6– ثنائي فسفات وإنزيم PFK-6-Pase، F-2 6-/2 (فسفوفركتو –2– كيناز / فركتوز –2، 6– بيسفسفاتاز) ثنائي الوظيفة. (PFK-1: فسفوفركتوكيناز – 1 [6 –فسفوفركتو –1– كيناز]؛ F-1, 6-Pase: فركتوز–1، 6– بيس فسفاتاز. تشير الأسهم المتموجة إلى التأثيرات التفارغية).

وبذلك، فعند وفرة الجلوكوز، يزداد الفركتوز 2، 6 ثنائي الفسفات، وهذا ينبه تحلُّل السكر عن طريق تنشيط الفسفوفركتوكيناز –1 وتثبيط 1، 6 ثنائى فسفاتاز الفركتوز. وفي حالات نقص الجلوكوز، يتنبه استحداث السكر بسبب نقص تركيز الفركتوز 2، 6 – ثنائي الفسفات، الذي يعطل (ينزع نشاط) الفسفوفركتوكيناز –1، ويرفع التثبيط عن (ينشط) 1، 6 ثنائي فسفاتاز الفركتوز. وتضمن هذه الآلية أيضاً أن يؤدي تنبيه تحلُّل الجليكوجين بالجلوكاجون في الكبد إلى تحرير الجلوكوز بدلاً من تحلله.

وتشير الاستقصاءات الأخيرة إلى أن الجلوكوز 1، 6 – ثنائي الفسفات يلعب دوراً مشابهاً في بعض الأنسجة خارج الكبد.

تسمح دورات الركيزة العبثية بالضبط الدقيق:

من الواضح أن العديد من نقاط التحكم في سبيل تحلل السكر وأيض الجليكوجين تتضمن دورات من تفاعلات الفسفتة ونزع الفسفات المحفزة بالإنزيمات التالية: الجلوكوكيناز وفسفاتاز الجلوكوز– 6 ؛ الفسفوفركتوكيناز –1 و 1، 6 ثنائى فسفاتاز الفركتوز، كيناز البيروڤات وكربوكسيلاز البيروڤات وكربوكسي كيناز الفسفوإينول بيروڤات؛ وأخيراً سنتاز الجليكوجين والفسفوريلاز. وإذا سمح لهذه الإنزيمات بأن تعمل (في دورة التفاعلات المشار إليها أعلاه) دون رقابة، فإنها قد تتحول لدورات عمل غير ذات جدوى (عبثية) وتكون محصلتها الصافية تحلل الـ ATP. والسبب في عدم حدوث ذلك بشكل واسع عائد لوجود العديد من آليات المراقبة، التي تضمن حدوث تثبيط لأحد أطراف الدورة في حين يتم بالوقت ذاته تنشيط طرف آخر منها، وذلك وفقاً لاحتياجات النسيج والجسم. ومع ذلك، فقد توجد هنا فائدة فيزيولوجية من السماح بحدوث بعض هذه الدورات. فعلى سبيل المثال، في دورة الفسفوفركتوكيناز و 1، 6 ثنائي فسفاتاز الفركتوز، يحدث تضخيم لتأثير المعدل التفارغي، أي الفركتوز 2، 6– ثنائي الفسفات، مما يسبب حدوث تبدل أكبر في تدفق نواتج الأيض الصافي، في أي من الاتجاهين من الذي يحدث في غياب الركيزة التي تعمل بالدورة. ويحدث هذا الضبط الدقيق للمراقبة الأيضية فقط على حساب بعض الخسارة من الـ ATP.

ينظم تركيز جلوكوز الدم ضمن حدود ضيقة:

يكون تركيز جلوكوز الدم عند الإنسان والعديد من الثدييات الأخرى ثابتاً في حالة ما بعد الامتصاص ضمن مجال 4.5 - 5.5 ممول/ل. وقد يرتفع بعد تناول وجبة من السكريات لنحو 6.5 - 7.2 ممول/ل. أما في أثناء الصيام فتنخفض المستويات لنحو 3.3 - 3.9 ممول/ل. ويكون مستوى جلوكوز الدم في الطيور أعلى بشكل ملحوظ (14.0 ممول/ل)، ويكون منخفضاً بوضوح عند المجترات (2.2 ممول/ل تقريباً عند الأغنام و 3.3 ممول/ل في الماشية). ويبدو أن هذه المستويات منخفضة السوية مرتبطة مع تلك الحقيقة القائلة إن المجترات تقوم فعلياً بتخمير كل السكريات الغذائية لتشكل أحماضاً دهنية دنيا (قصيرة السلسلة) (طيارة Volatile)، والتي تأخذ على نحو واسع مكان الجلوكوز كوقود أيضي أساسي للأنسجة في حالة الشبع.

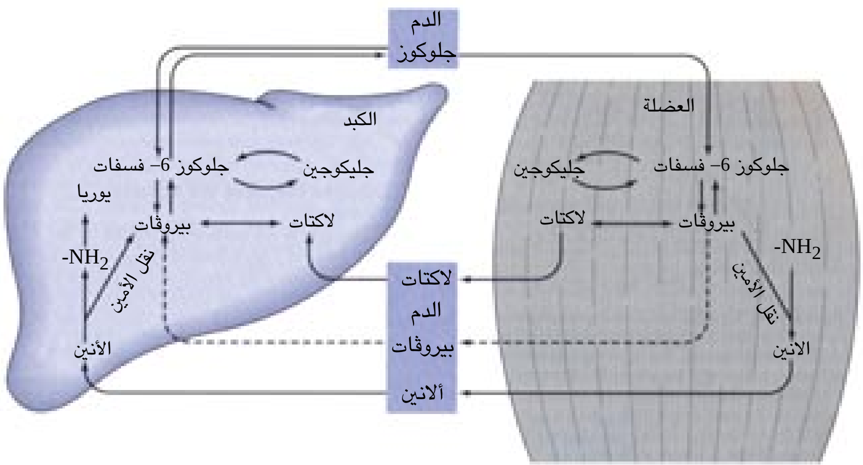
يسبب نقص جلوكوز الدم الفجائي حدوث الاختلاجات (Convulsions)، كما في حال فرط جرعة الإنسولين، بسبب اعتماد الدماغ المباشر على التزود بالجلوكوز. إلا أنه يمكن تحمل التراكيز الأكثر انخفاضاً، شريطة السماح بحدوث تلاؤم تدريجي مع هذه الحالة؛ فمثلاً، الجرذان المتلائمة مع الغذاء الغني بالدهون تسلك سلوكاً سوياً بتركيز من الجلوكوز في الدم يصل لنحو 1.1 ممول/ل.

يشتق جلوكوز الدم من كل من الغذاء واستحداث السكر وتحلل الجليكوجين:

تشكل معظم السكريات الغذائية القابلة للهضم الجلوكوز في النهاية. وتحوي السكريات الغذائية التي تهضم بشكل نشيط (جيداً) ثمالات كل من الجلوكوز. والجالاكتوز والفركتوز التي يتم تحريرها في الأمعاء. ثم تنقل إلى الكبد عن طريق الوريد البابي الكبدي (Hepatic portal vein). ويتحول الفركتوز والجالاكتوز بسهولة إلى الجلوكوز في الكبد (الفصل 22).

يتشكل الجلوكوز من المركبات المولدة للسكر، التي تخضع لسبيل استحداث

السكر (الشكلان 18-4 و 21-1). وتصنف هذه المركبات إلى مجموعتين: (1) تلك التي تتحول تماماً وبشكل مباشر إلى الجلوكوز دون حدوث إعادة التشكيل، مثل بعض الأحماض الأمينية والبروبيونات؛ و (2) تلك التي تعد نواتج الأيض الجزئي للجلوكوز في أنسجة معينة، وهي تنقل إلى الكبد والكلية حيث تتم إعادة تخليق الجلوكوز منها. وبهذا، فإن اللاكتات المتشكلة من أكسدة الجلوكوز في العضلات الهيكلية والكريات الحمراء، يتم نقلها إلى الكبد والكلية حيث تعيد تشكيل الجلوكوز، الذي يصبح متاحاً مرة ثانية. عن طريق الدوران لأكسدته في الأنسجة. وتعرف هذه العملية بدورة كوري (Cori Cycle) أو دورة حمض اللاكتيك (الشكل 21-4). ويشتق الجليسرول 3 – فسفات المخصص لتخليق ثلاثي أسيل الجليسرول في النسيج الشحمي من جلوكوز الدم. وتخضع مركبات أسيل الجليسرول بالنسيج الشحمي باستمرار للتحلل ليتشكل الجليسرول الحر، الذي لا يمكن للنسيج الشحمي أن يستخدمه، لذلك فهو ينتشر إلى الدم، ويتحول ثانية إلى الجلوكوز بآليات استحداث السكر في الكبد والكلية (الشكل 21-1).



شكل 21-4: دورة حمض اللاكتيك (دورة كوري Cori) ودورة جلوكوز ـ ألانين.

تنقل الأحـمـاض الأمينية من العضـلات إلى الكبد في أثناء الجـوع حـيث يكون الألانين هو السـائد فيـهـا. وقد أدى هذا إلى التسليم بوجود دورة جلوكـوز ـ ألانين (الشكل 21-4) التي لهـا تـأثيـر في دوران الجلوكـوز من الكبـد إلى العضـلات مع تشكيل البيروفـات ويلي ذلك نقل الأمين فيـعطي ألانين الذي ينقل بعدئذ إلى الكبد حيث يعود ثانية ليشكل الجلوكوز من خلال سبيل استحداث السكر. ويحدث هنا انتقالاً صرفاً للنتروجين الأميني من العضـلات إلى الكبد وانتقالاً للطاقة الحرة من الكبد إلى العضـلات. وتشـتق الطاقة المطلوبة لتخليق الجلوكوز من البيـروفات في الكبد من أكسدة الأحماض الدهنية. ويتشكل الجلوكوز أيضـاً من جليكوجين الكبد بتحلُّل الجليكوجين (الفصل 20).

تنظم الآليات الهرمونية والأيضية تركيز جلوكوز الدم:

إن المحافظة على مستويات ثابتة من الجلوكوز في الدم هي الآلية الأكثر دقة في التنظيم من بين جميع آليات الاستتباب الأخرى، وهي تلك التي يقوم كل من الكبد والأنسجة خارج الكبد والهرمونات المتعددة بلعب دور فيها. ويبدو أن الخلايا الكبد تنفـذ الجلوكوز بحـرية (عن طريق الناقل GLUT2)، في حين أن خـلايا الأنسـجـة خارج الكبد (فيما عدا الجزر البنكرياسية) تكون غير نفوذة نسبياً. وبالنتيجة، فإن المرور خـلال الغشـاء الخلوي هو الخطوة المحـدِّدة لمعدل قبط الجلوكوز بـالأنسـجـة خـارج الكبـد، وحـالما يدخل الجلوكوز إلى الخليـة فـإنه يفسـفت بسـرعـة بوسـاطة الهكسـوكيناز. من جـانب آخـر، فمن المرجح أن فـعـاليـة بعض الإنزيمات وتركـيـز المتوسطات الأسـاسـيـة يمارسـان تأثيراً مباشـراً إلى حد بعيد في قبط أو في نتـاج الجلوكوز من الكبد. وعلى الرغم من ذلك فـإن تركـيـز جلوكـوز الدم هو عـامل مـهم يتحكم بمعدل قبط الجلوكوز في كل من الكبد والأنسجة خارج الكبد.

يبين (الجـدول 21-2) دور البـروتينات المتنوعـة الناقلة للجلوكـوز المـوجـودة في الأغشية الخلوية، حيث يمتلك كل منها 12 قطاعاً عابراً للغشاء.

	الموضوع النسيجي	**الوظائف**
النواقل الميسرة ثنائية الاتجاه		
GLUT1	الدماغ، الكلية، القولون، المشيمة والكرية الحمراء	قبط الجلوكوز
GLUT2	الكبد، خلايا β البنكرياسية، المعى الدقيق، الكلية	القبط والتحرير السريعين للجلوكوز
GLUT3	الدماغ، الكلية، المشيمة	قبط الجلوكوز
GLUT4	القلب والعضلات الهيكلية، النسيج الشحمي	قبط الجلوكوز المنبه بالإنسولين
GLUT5	المعى الدقيق	امتصاص الجلوكوز
الناقل أحادي الاتجاه المعتمد على الصوديوم		
SGLT1	المعى الدقيق والكلية	القبط الفعال للجلوكوز من تجويف المعى وإعادة امتصاص الجلوكوز في النبيب الداني بالكلية عكس مدرج التركيز.

الجدول 21-2: نواقل الجلوكوز.

للجلوكوكيناز أهمية في تنظيم جلوكوز الدم ما بعد الوجبة:

من الملاحظ أن الهكسوكيناز يتثبط بالجلوكوز 6 – فسفات، بحيث قد تتم ممارسة بعض التحكم بالتلقيم الراجع على قبط الجلوكوز في الأنسجة خارج الكبد بالاعتماد على الهكسوكيناز لفسفتة الجلوكوز. ولا يخضع الكبد لهذا التقييد لأن الجلوكوكيناز لا يتأثر بالجلوكوز 6 – فسفات. وللجلوكوكيناز K_m للجلوكوز أعلى (ألفة أقل) من التي للهكسوكيناز، وتزداد فاعليته أكثر من المجال الفيزيولوجي لتراكيز الجلوكوز (الشكل 21-5) ويبدو أنه معني بصورة دقيقة بقبط الجلوكوز في

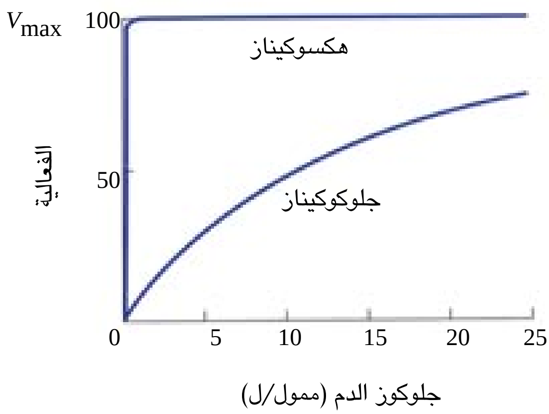
الكبد عند التراكيز الأعلى الموجودة في الوريد البابي الكبدي بعد تناول وجبة من السكريات. ويكون غيابه من كبد المجترات، التي تملك قليلاً من الجلوكوز الذي يدخل من الأمعاء إلى الدوران البابي، منسجماً مع هذه الوظيفة.

ويبدو أن الكبد هو المنتج الجوهري للجلوكوز عند التراكيز السوية للجلوكوز في الدم الجهازي (5.4 - 5.5 ممول/ل). إلا أنه، ما إن يرتفع مستوى الجلوكوز، حتى يتوقف نتاج الجلوكوز، بحيث أنه يوجد عند المستويات المرتفعة قبطاً صافياً له. وتبين من الدراسات على الجرذان، أنه يتساوى كل من معدل قبط الجلوكوز ومعدل نتاجه عندما يكون تركيز جلوكوز الدم في الوريد البابي الكبدي مساوياً لـ 8.3 ممول/ل.

يلعب الإنسولين دوراً مركزياً في تنظيم جلوكوز الدم:

بالإضافة إلى تأثيرات فرط سكر الدم المباشرة في تعزيز قبط الجلوكوز في كل من الكبد والأنسجة المحيطية، فإن هرمون الإنسولين يلعب دوراً مركزياً في تنظيم تركيز جلوكوز الدم. وتنتجه الخلايا B في جزر لانجرهنس (Langerhans) في البنكرياس كاستجابة مباشرة لدرجة فرط سكر الدم. وتكون خلايا الجزر نفوذة بحرية للجلوكوز عن طريق الناقل GLUT2، ويفسفت الجلوكوز بالجلوكوكيناز ذي K_m المرتفعة. وبناء عليه، فإن تركيز جلوكوز الدم يحدد التدفق خلال سبيل تحلل السكر ودورة حمض السيتريك وكذلك توليد الـ ATP. ويؤدي ازدياد تركيز الـ ATP إلى تثبيط قنوات البوتاسيوم K^+ الحساسة لـ ATP مما يسبب إزالة استقطاب غشاء الخلية B، الذي يزيد من تدفق الكالسيوم Ca^{2+} عن طريق قنوات Ca^{2+} الحساسة للڤولطاج، فيتنبه بذلك التفاظ (إيماس: Exocytosis) الإنسولين. والجدير بالملاحظة أن أدوية السلفونيل يوريا (البولات المكبرتة) (Sulfonylurea)المستخدمة لتنبيه إفراز الإنسولين في النمط الثاني من الداء السكري (الداء السكري غير المعتمد على الإنسولين: NIDDM) تفعل ذلك أيضاً عن طريق تثبيط قنوات K^+ الحساسة لـ ATP. وهكذا، فإن تركيز الإنسولين في الدم يوازي تركيز جلوكوز الدم. ويؤدي إعطاؤه إلى تحريض فوري لنقص سكر الدم (Hypoglycemia).

وتتضمن المواد الأخرى التي تسبب إطلاق الإنسولين من البنكرياس كلاً من الأحماض الأمينية والأحماض الدهنية الحرة والأجسام الكيتونية والجلوكاجون والسكريتين وأدوية السلفونيل يوريا التلبيوتاميد (Tolbutamide) والجليبوريد (Glyburide). أما الإبينفرين والنورإبينفرين فهما يحاصران إطلاق الإنسولين. وللإنسولين تأثير مباشر يتجلى في زيادة قبط الجلوكوز في الأنسجة كالنسيج الشحمي والعضلات. وينجم هذا الفعل عن تعزيز نقل الجلوكوز خلال الغشاء الخلوي بتجنيد نواقل الجلوكوز (GLUT4) من داخل الخلية إلى الغشاء البلازمي لإنجاز ذلك. وبالمقابل، لا يوجد تأثير مباشر للإنسولين في نفاذ (Penetration) الجلوكوز خلال الخلايا الكبد؛ وتتوافق هذه المعطيات مع حقيقة أنه لا يتحدد معدل أيض الجلوكوز في الخلايا الكبد بمدى نفوذية هذه الخلايا للجلوكوز. من ناحية ثانية، يعزز الإنسولين بشكل لا مباشر قبط الكبد للجلوكوز على المدى الطويل كنتيجة لتأثيراته في تخليق الإنزيمات المتحكمة بكل من تحلُّل السكر وتكون الجليكوجين واستحداث السكر. كما أن للإنسولين تأثيراً مباشراً في تنشيط سنتاز الجليكوجين (الفصل 20).



شكل 21-5: التباين في فاعلية فسفتة الجلوكوز من قبل الهكسوكيناز والجلوكوكيناز المرافق لازدياد تركيز جلوكوز الدم. تساوي K_m الهكسوكيناز تجاه الجلوكوز 50.0 ممول/ل و K_m الجلوكوكيناز تجاه الجلوكوز هي 10 ممول/ل.

يُعاكس الجلوكاجون تأثيرات الإنسولين:

تنتج الخلايا A في جزر لانجرهانس البنكرياسية هرمون الجلوكاجون. ويتنبه إفرازه بنقص سكر الدم. وهو عندما يصل إلى الكبد (عن طريق الوريد البابي) يسبب تحلل الجليكوجين بتنشيطه للفسفوريلاز. ويقوم الكبد بإزالة معظم الجلوكاجون داخلي المنشأ (وكذلك الإنسولين) من الدوران وخلافاً للإبينفرين، ليس للجلوكاجون أي تأثير في الفسفوريلاز العضلي. ويعزز الجلوكاجون أيضاً استحداث السكر بدءاً من الأحماض الأمينية واللاكتات. ويعمل الجلوكاجون في جميع هذه الأحوال عن طريق توليد الـ cAMP (الجدول 21-1). ويُسهم كل من تحلل الجليكوجين واستحداث السكر الكبديين في تحقيق تأثير الجلوكاجون الرافع لسكر الدم، وهي تأثيرات معاكسة لتأثيرات الإنسولين.

تؤثر هرمونات أخرى بجلوكوز الدم:

تعزز الغدة النخامية الأمامية هرمونات تنزع إلى رفع جلوكوز الدم وهي بذلك تعاكس تأثير الإنسولين. وهذه الهرمونات هي هرمون النمو والـ ACTH (الموجهة القشرية) ومن الجائز عناصر مميزة أخرى مولدة لداء السكري. حيث يتنبه إفراز هرمون النمو بنقص سكر الدم، وهو ينقص قبط الجلوكوز في بعض الأنسجة كالعضلات. وقد يكون بعض هذا التأثير غير مباشر، لأنه يحرك الأحماض الدهنية الحرة من النسيج الشحمي وهي التي تقوم بحد ذاتها بتثبيط استعمال الجلوكوز. ويؤدي تعاطي هرمون النمو بشكل مزمن إلى الداء السكري. وبإحداثه لفرط سكر الدم، فهو ينبه إفراز الإنسولين مسبباً بالنهاية إنهاك الخلايا β.

تفرز القشرانيات السكرية (11– أكسي ستيرويدات) من قشر الكظر وهي مهمة في أيض السكريات. ويسبب إعطاء هذه الستيرويدات ازدياداً في استحداث السكر، وذلك نتيجة لكل من ازدياد تقويض البروتينات في الأنسجة وارتفاع قبط الكبد للأحماض الأمينية، وزيادة فعالية ناقلات الأمين وإنزيمات أخرى مرتبطة باستحداث السكر في الكبد. وإضافة إلى ذلك، تثبط القشرانيات السكرية استعمال الجلوكوز

في الأنسجة خارج الكبد، وتعمل القشرانيات السكرية في جميع هذه الأفعال بأسلوب معاكس للإنسولين.

يفرز الإبينفرين من لب الكظر كنتيجة لمنبهات الكرب (كالخوف والإثارة والنزف ونقص الأكسجين ونقص سكر الدم..إلخ) وهو يؤدي إلى تحلل الجليكوجين في الكبد والعضلات بسبب تنبيه الفسفوريلاز عن طريق توليد الـ cAMP. وكنتيجة لفقدان إنزيم فسفاتاز الجلوكوز–6 من العضلات، فإن تحلل الجليكوجين يحدث وتتشكل اللاكتات، في حين أنه في الكبد يكون الجلوكوز هو الناتج الرئيسي المؤدي لرفع جلوكوز الدم.

من الضروري أن تؤخذ الهرمونات الدرقية في الحسبان لأنها تؤثر في جلوكوز الدم. وتوجد دلائل تجريبية على أن للثيروكسين فعلاً مولداً لداء السكري وأن استئصال الغدة الدرقية يثبط حدوثه. كما لُوحظ فقدان تام للجليكوجين من أكباد الحيوانات المصابة بالانسمام الدرقي. أما عند الإنسان فيرتفع جلوكوز الدم الصيامي عند المرضى مفرطي الدرقية وينخفض عند المرضى قاصري الدرقية. ومع ذلك فمن الواضح أن المرضى مفرطي الدرقية يستعملون الجلوكوز بمعدل طبيعي أو مرتفع، في حين أن للمرضى قاصري الدرقية قابلية منخفضة على استعمال الجلوكوز. إضافة إلى ذلك، يكون المرضى قاصروا الدرقية أقل حساسية تجاه الإنسولين من الأفراد الأسوياء أو مفرطي الدرقية.

مظاهر سريرية أخرى:

تحدث البيلة السكرية عند تجاوز العتبة الكلوية للجلوكوز:

عندما يرتفع جلوكوز الدم إلى مستويات عالية نسبياً، تمارس الكلية تأثيراً تنظيمياً أيضاً. فالجلوكوز يرشح باستمرار عن طريق الكبيبات، لكنه يعود عادة بشكل كامل إلى الدم بوساطة جملة إعادة الامتصاص في النبيبات الكلوية. وإن إعادة امتصاص الجلوكوز عكس مدروج تركيزه هي عملية مرتبطة بتوافر الـ ATP

في خلايا النبيبات. وتكون سعة الجملة النبيبية على إعادة امتصاص الجلوكوز محدودة بمعدل 350 مللي جرام/دقيقة تقريباً.

وعندما ترتفع مستويات جلوكوز الدم، فإن الرشاحة الكبيبية قد تحوي جلوكوزاً أكبر من الحد الذي يمكن إعادة امتصاصه، حيث يمر الفائض إلى البول مسبباً بذلك البيلة السكرية (Glycosuria).

وتحدث البيلة السكرية عند الأفراد الأسوياء عندما يتجاوز تركيز جلوكوز الدم الوريدي مقدار 9.5 - 10.0 ممول/ل. ويطلق على هذا المقدار مصطلح العتبة الكلوية (Renal threshold) للجلوكوز.

يمكن إحداث البيلة السكرية عند حيوانات التجربة باستعمال الفلوريزين (Phlorhizin)، الذي يثبط جملة إعادة امتصاص الجلوكوز في النبيبات. ويُعرف هذا بالبيلة السكرية الكلوية. وقد تنجم البيلة السكرية ذات المنشأ الكلوي عن عيوب وراثية في الكلية، أو قد تُكْتَسب بنتيجة تفاعلات مرضية. وغالباً ما يُشير وجود البيلة السكرية إلى الداء السكري.

يسبب عوز 1، 6 ثنائي فسفاتاز الفركتوز حدوث الحماض اللبني ونقص سكر الدم:

يؤدي عوز هذا الإنزيم إلى توقف استحداث السكر ومنع اللاكتات والركائز الأخرى المولدة للسكر من أن تتحول إلى الجلوكوز في الكبد. ويمكن السيطرة على هذه الحالة بإعطاء غذاء غني بالسكريات وفقير بالفركتوز والسكروز مع تجنب الصيام.

إن الاضطراب في أكسدة الأحماض الدهنية هو من أسباب نقص سكر الدم:

تتصف حالات متعددة، تكون فيها أكسدة الأحماض الدهنية معيبة، بحدوث

نقص سكر الدم. وينتج ذلك عن اعتماد سبيل استحداث السكر على الأكسدة النشيطة للأحماض الدهنية (انظر أعلاه). وقد نوقشت هذه الحالات في (الفصل 24).

قد يحدث نقص سكر الدم في أثناء الحمل وعند الوليد:

يزداد استهلاك الجلوكوز عند الجنين في أثناء الحمل ويوجد خطر الإصابة بنقص سكر الدم عند الأم الحامل وربما عند الجنين، بخاصة إذا كانت هناك فواصل زمنية طويلة بين الوجبات أو في أثناء الليل، عدا عن ذلك، فالخدج والأطفال منخفضوا الوزن عند الولادة هم أكثر استعداداً للإصابة بنقص للسكر الدم، لأن لديهم نسيجاً شحمياً أصغر من أن يوِّلد وقوداً بديلاً كالأحماض الدهنية الحرة أو الأجسام الكيتونية في أثناء الانتقال من الاعتماد الجنيني إلى حالة الحياة المستقلة.

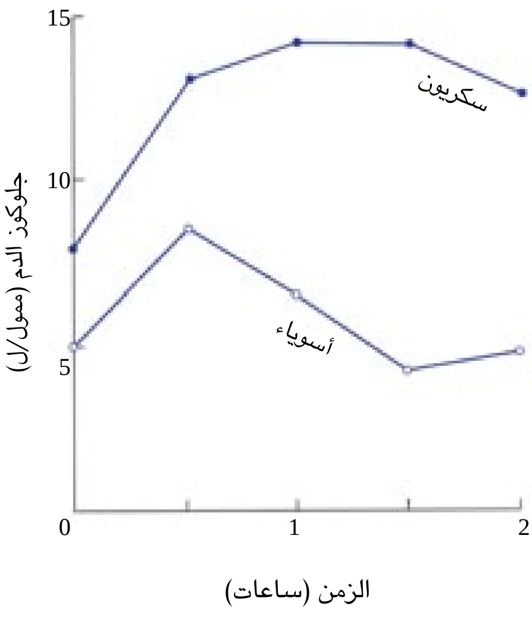
وقد تكون إنزيمات استحداث السكر غير وظيفية بشكل كامل في هذه الفترة، وتكون العملية معتمدة على تأمين الطاقة من الأحماض الدهنية الحرة. كما أن الجليسرول الذي يتحرر بشكل طبيعي من النسيج الشحمي، يكون توافره قليلاً من أجل استحداث السكر.

يمكن التحقق من مقدرة الجسم على استعمال الجلوكوز بقياس تحمله للجلوكوز:

يحدد تحمل الجلوكوز حسب طبيعة منحنى جلوكوز الدم بعد إعطاء كمية اختبارية من الجلوكوز (الشكل 21-6). ويتميز الداء السكري (النمط 1، أو الداء السكري المعتمد على الإنسولين؛ IDDM) بانخفاض تحمل الجلوكوز الناجم عن نقص إفراز الإنسولين استجابة لاختبار الجلوكوز. ويتظاهر هذا بمستويات مرتفعة من جلوكوز الدم (فرط سكر الدم) وببيلة سكرية، كما قد يترافق بتبدلات في أيض الدهن. ولا ينخفض التحمل للجلوكوز قط في النمط 1 من الداء السكري، بل وأيضاً في الحالات التي يكون الكبد فيها متضرراً، كما في بعض الأمراض المعدية، وفي

النمط 2 من الداء السكري (الداء السكري غير المعتمد على الإنسولين، NIDDM)، الذي غالباً ما يترافق مع البدانة ومستويات مرتفعة من الأحماض الدهنية الحرة في البلازما، وعند تأثير بعض الأدوية، وفي حالة التصلب العصيدي أحياناً. ومن المتوقع حصوله أيضاً عند وجود فرط فى نشاط الغدة النخامية أو بقشر الكظر بسبب معاكسة هرمونات هذه الغدد الصماء لتأثير الإنسولين.

يرفع الإنسولين درجة تحمل الجلوكوز. حيث تؤدي حقنة الإنسولين إلى خفض محتوى الجلوكوز في الدم وزيادة استعماله واختزانه في الكبد والعضلات بشكل جليكوجين. وقد يسبب فرط الإنسولين نقص سكر الدم الوخيم الذي يؤدي للاختلاجات وحتى إلى الموت مالم يتم إعطاء الجلوكوز دون إبطاء. ويُلاحظ التحمل المرتفع للجلوكوز في قصور النخامى أو قشر الكظر، ويعزى هذا إلى تناقص التأثيرات المعاكسة للإنسولين التي كانت تمارسها الهرمونات المفرزة في الحالة السوية من هذه الغدد.



شكل 21-6: اختبار تحمل الجلوكوز. تظهر منحنيات جلوكوز الدم للأفراد الأسوياء والسكريين بعد إعطائهم 50 جراماً من الجلوكوز فموياً. لاحظ أن الارتفاع الأولي للتركيز يكون عند السكريين. تكون الإشارة على الحالة السوية هي عودة المنحني إلى القيمة الأولية خلال ساعتين.

الخلاصة:

1 – استحداث السكر هو آلية لتحويل المركبات غير السكرية (غير الكربوهيدراتية) إلى الجلوكوز أو الجليكوجين. وهي تُزود الجسم بالجلوكوز عندما لا تتوافر السكريات في الغذاء. من الركائز المهمة: الأحماض الأمينية المولدة للسكر واللاكتات والجليسرول والبروبيونات.

2 – يجري سبيل استحداث السكر في الكبد والكلية وهو يستعمل تلك التفاعلات الموجودة في سبيل تحلل السكر لكن بالاتجاه المعاكس مع إضافة أربعة تفاعلات لتجاوز التفاعلات غير العكوسة غير المتوازنة فيه. والإنزيمات التي تحفز التفاعلات الإضافية هي كربوكسيلاز البيروڤات وكربوكسي كيناز الفسفوإينول بيروڤات و 1، 6 ثنائي فسفاتاز الفركتوز و 6– فسفاتاز الجلوكوز.

3 – اللاكتات تشكل البيروڤات، التي تدخل للمتقدرة وتخضع لتفاعل ضم كربوكسيل لتعطي الأكسالوأسيتات، قبل أن تتحول إلى فسفوإينول بيروڤات الذي يليه التخليق الحيوي للجلوكوز في العصارة الخلوية.

4 – لأن كل من تحلل السكر واستحداثه يسلكان ذات السبيل لكن في اتجاهين متعاكسين، فإن تفاعلاتهما تخضع للتنظيم بشكل متعاكس (تبادلي). وينجز ذلك بثلاث آليات رئيسية تؤثر في فعالية الإنزيمات الأساسية. (1) تحريض أو كظم تخليق الإنزيمات (2) التعديل التكافؤي عن طريق الفسفتة العكسية، و(3) التأثيرات التفارغية.

5 – إن الخلية الكبد، النفوذة للجلوكوز بلا قيود هي الوسيلة الأساسية لتنظيم تركيز جلوكوز الدم لأنها تحوي الجلوكوكيناز عالي الـ K_m الذي يكون متلائماً بشكل نوعي للتخلص من الجلوكوز بعد الوجبة. ويفرز الإنسولين كاستجابة مباشرة لفرط سكر الدم؛ وهو يساعد الكبد على اختزان الجلوكوز كجليكوجين ويسهل قبط الجلوكوز إلى الأنسجة خارج الكبد. أما الجلوكاجون فيفرز كاستجابة لنقص سكر الدم وهو ينشط كل من تحلل الجليكوجين واستحداث السكر في الكبد مسبباً تحرير الجلوكوز إلى الدم.

6 – يؤدي وجود عيوب بإنزيمات استحداث السكر إلى نقص سكر الدم والحماض اللبني. كما أن التوقفات في أكسدة الأحماض الدهنية هي من الأسباب الإضافية لتضرر استحداث السكر ونقص سكر الدم.

7 – يؤدي قصور إفراز الإنسولين إلى النمط 1 من الداء السكري.

*** References:**

Boyle PJ, Shar SD, Cryer PE: Insulin, glucagon, and catecholamines in prevention of hypoglycemia during fasting. *Am J Physiol* 1989;256:E651.

Buchalter SE, Crain MR, Kreisberg R: Regulation of lactate metabolism in vivo. *Diabetes Metab Rev* 1989;5: 379.

Burant CF et al: Mammalian glucose transporters: Structure and molecular regulation. *Recent Prog Horm Res* 1991; 47:349.

Krebs HA: Gluconeogenesis. *Proc R Soc London* (Biol) 1964;159:545.

Lenzen S: Hexose recognition mechanisms in pancreatic β cells. *Biochem Soc Trans* 1990;18:105.

Newgard CB, McGarry JD: Metabolic coupling factors in pancreatic beta-cell signal transduction. *Annu R Biochem* 1995;64:689.

Newsholme EA, Start C: *Regulation in Metabolism.* Wiley 1973.

Pilkis SJ, El-Maghrabi MR, Claus TH: Hormonal regul tion of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. *An Rev Biochem* 1988;57:755.

Pilkis SJ, Granner DK: Molecular physiology of the regul tion of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. *An Rev Physiol* 1992;54:885.

Watford M: What is the metabolic fate of dietary glucos *Trends Biochem Sci* 1988;13:329.

Yki-Jarvinen H: Action of insulin on glucose metabolism vivo. Baillieres *Clin Endocrinol Metab* 1993;7:903.

الفصل الثاني والعشرون

سبيل فسفات البنتوز والسبل الأخرى لأيض الهكسوزات

The Pentose Phosphate Pathway and Other Pathways of Hexose Metabolism

مقدمة:

سبيل فسفات البنتوز هو طريق بديلة لأيض الجلوكوز. وهو لا يولد الـ ATP لكن له وظيفتان رئيستان: (1) توليد NADPH من أجل عمليات التخليق الإرجاعي (الاختزالي)، كالتخليق الحيوي للأحماض الدهنية والستيرويدات، و (2) توفير ثمالات الريبوز الضروري للتخليق الحيوي لكل من النوكليوتيدات والأحماض النووية.

إن الجلوكوز والفركتوز والجالاكتوز هي الهكسوزات الأكثر أهمية من حيث الكميات الممتصة في السبيل المعدي المعوي. وهي تشتق من النشا الغذائي والسكروز واللاكتوز على الترتيب. لقد اتضحت عدة سبل متخصصة في الكبد على نحو خاص لتحويل الفركتوز والجالاكتوز إلى جلوكوز.

الأهمية الطبية البيولوجية:

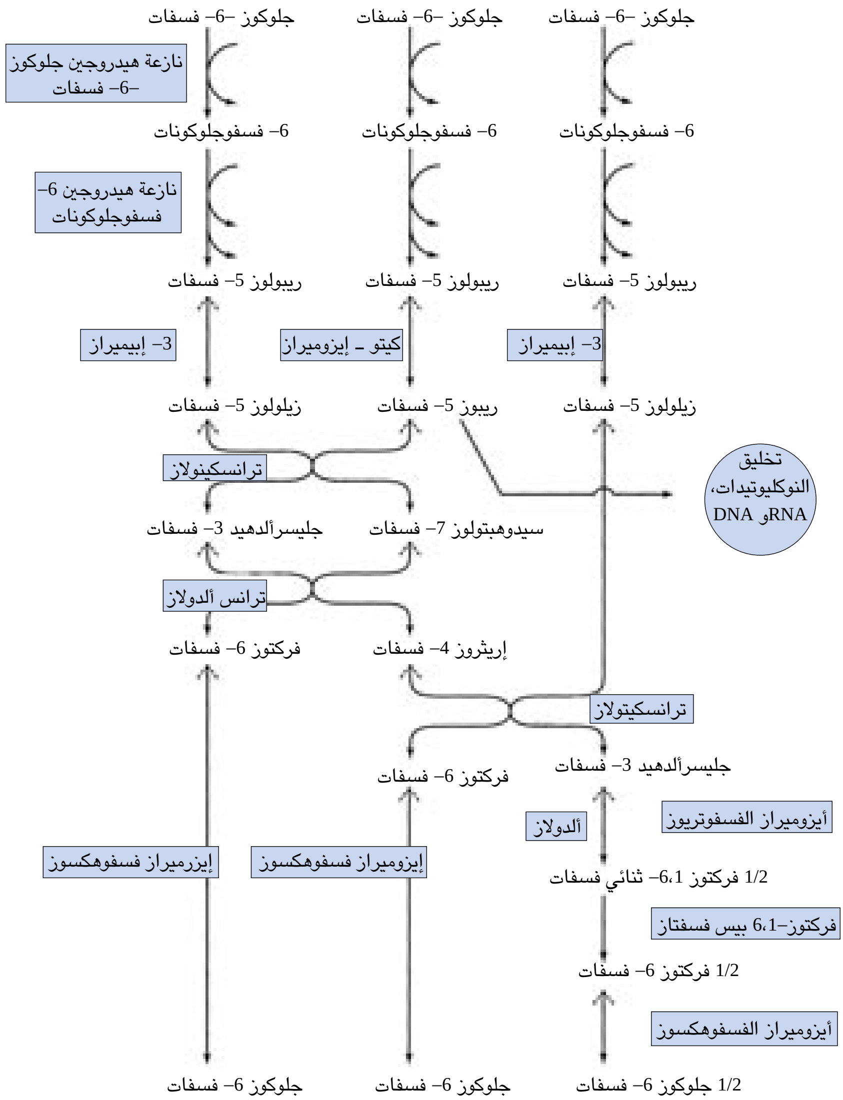
إن الطرق الأيضية الرئيسة لاستعمال الجلوكوز هي تحلل السكر وسبيل فسفات

البنتوز. وتعد حالات عوز بعض الإنزيمات في سبيل فسفات البنتوز الأسباب الرئيسة لانحلال كريات الدم الحمراء (انحلال دموي)، مما يؤدي إلى أحد أنماط فقر الدم الانحلالي (Hemolytic anemia). والإنزيم الأساسي المكتنف في ذلك هو نازعة هيدروجين الجلوكوز – 6– فسفات (G6PD) . حيث قدر أن أكثر من 100 مليون إنسان في أرجاء العالم قد يكون لديهم مستويات منخفضة من هذا الإنزيم لأسباب وراثية.

إن اشتقاق حمض الجلوكورونيك من الجلوكوز عن طريق سبيل الحمض اليوروني (Uronic acid pathway) مع أنها عملية ذات أهمية ثانوية كمياً لكنها بالغة الأهمية في إفراغ نواتج الأيض والمواد الكيميائية الغريبة على شكل جلوكورونيدات (Glucuronides) ويؤدي العوز في هذا السبيل إلى الحالة المعروفة بالبيلة البنتوزية الأساسية (Essential pentosuria). ويكون الغياب التام لأحد الإنزيمات المهمة من السبيل عند كافة الرئيسات مسؤولاً عن تلك الحقيقة أن حمض الأسكوربيك (الفيتامين C)ضروري في غذاء الإنسان لكن ليس عند معظم الثدييات الأخرى. ويؤدي عوز إنزيمات الأيض كل من الفركتوز والجالاكتوز إلى أمراض أيضية مثل بيلة الفركتوز الأساسية (Essential Fructosuria) ووجود الجالاكتوز في الدم (Galactosemias). ويستخدم الفركتوز في التغذية بالحقن، لكنه يمكن أن يُسبب بتراكيز عالية نفاد نوكليوتيدات الأدينين في الكبد وبالتالي النخر الكبدي.

يولد سبيل فسفات البنتوز الـ NADPHوفسفات الريبوز (الشكل 22-1):

وإن سبيل فسفات البنتوز (تحويلة الهكسوز أحادي الفسفات) أكثر تعقيداً من تحلل السكر. فهو عملية متعددة الدورات يجري فيها تحول ثلاث جزيئات جلوكوز 6– فسفات إلى ثلاث جزيئات CO_2 وثلاث ثمالات خماسية الكربون. ويعاد ترتيب هذه الأخيرة لتولد من جديد جزيئين من الجلوكوز 6– فسفات وجزيء واحد من متوسط سبيل تحلل السكر وهو الجليسرالدهيد 3– فسفات. ولأن جزيئين من الجليسرالدهيد 3– فسفات يمكن أن يعيدا توليد الجلوكوز 6– فسفات، فإن هذا السبيل يمكن أن يكون مسؤولاً عن الأكسدة التامة للجلوكوز.



شكل 22-1: مخطط سبيل فسفات البنتوز وعلاقته مع سبيل تحلل السكر. يتألف السبيل الكامل، كما هو مشار إليه، من ثلاث دورات مترابطة بينياً يكون الجلوكوز 6– فسفات في كل منها هو الركيزة والناتج النهائي. تكون التفاعلات الواقعة أعلى الخط المتقطع غير عكسية، في حين أن كافة التفاعلات تحت ذلك الخط تكون عكسية تماماً فيما عدا ذلك المتحفز بالفركتوز –1، 6– بيس فسفاتاز.

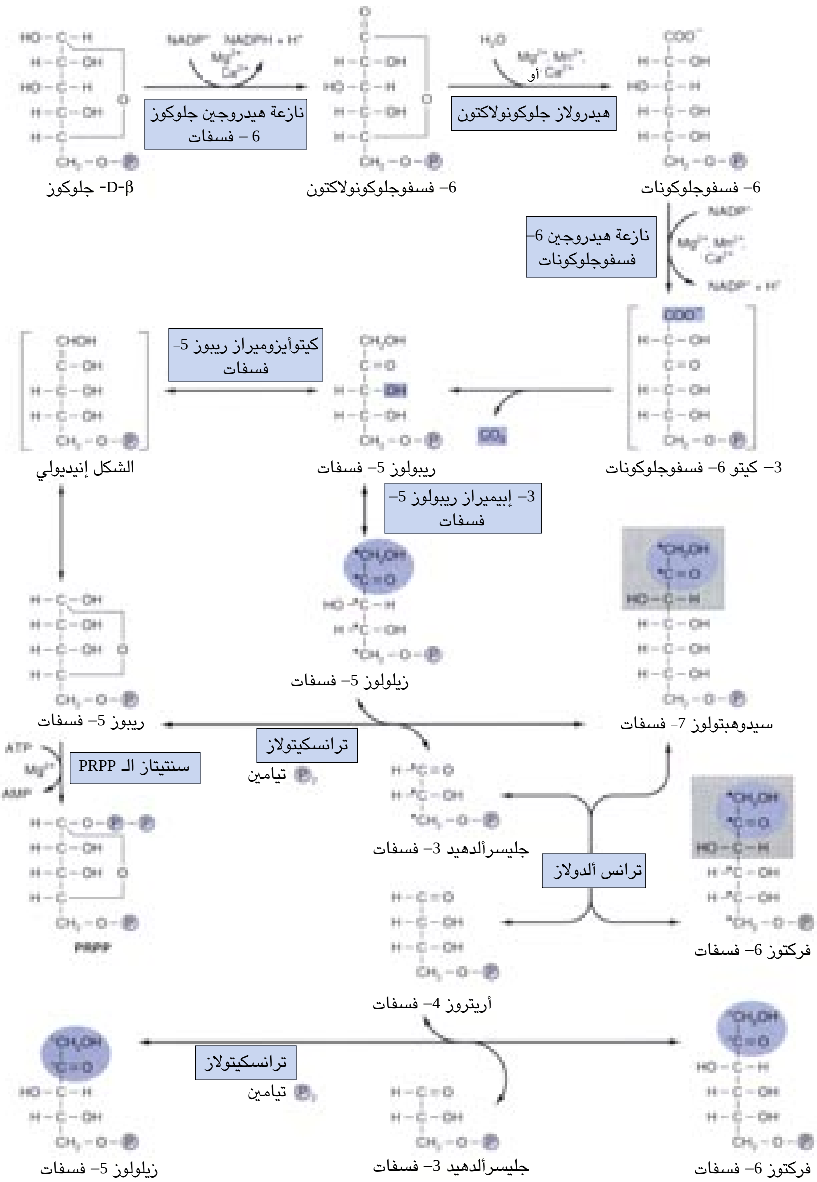
تجري تفاعلات سبيل فسفات البنتوز في العصارة الخلوية:

توجد إنزيمات سبيل فسفات البنتوز، مثل سبيل تحلل السكر، في العصارة الخلوية. وكما هو الحال في تحلل السكر، تنجز الأكسدة عن طريق نزع الهيدروجين، لكن في حالة سبيل فسفات البنتوز يستخدم الـ $NADP^+$ وليس الـ NAD^+ كمستقبل للهيدروجين.

ويمكن تقسيم تسلسل التفاعلات في هذا السبيل إلى طورين: الطور التأكسدي غير العكسى والطور غير التأكسدي العكسى. حيث يخضع الجلوكوز 6- فسفات في الطور الأول إلى نزع هيدروجين ونزع كربوكسيل ليعطي بنتوزاً هو الريبوليكوز 5- فسفات. أما في الطور الثاني، فيتحول الريبوليكوز 5- فسفات من جديد إلى الجلوكوز 6- فسفات عن طريق سلسلة من التفاعلات المتضمنة إنزيمين بشكل أساسي هما ترانسكيتولاز (Transketolase) (ناقلة الكيتول) وترانس ألدولاز (Transaldolase) (ناقلة الألدولاز) (الشكل 22-1).

يولد الطور التأكسدي الـ NADPH (الشكلان 22-1 و 22-2):

يحدث نزع هيدروجين الجلوكوز 6- فسفات لإعطاء 6- فسفوجلوكونات عن طريق تشكيل 6- فسفوجلوكونولاكتون بتحفيز نازعة هيدروجين جلوكوز -6- فسفات وهو إنزيم معتمد على الـ NADP. وتنجز حلمهة 6- فسفوجلوكونولاكتون بإنزيم هيدرولاز الجلوكونولاكتون. وتتحفز الخطوة التأكسدية الثانية بنازعة هيدروجين 6- فسفوجلوكونات الذي يتطلب $NADP^+$ أيضاً كمتقبل للهيدروجين. ويلي ذلك نزع الكربوكسيل لتشكيل بنتوزكيتوني هو ريبوليكوز 5 - فسفات. حيث يجري هذا التفاعل على الأغلب في خطوتين يتوسطهما المركب 3 - كيتو 6- فسفوجلوكونات.



شكل 2-22: سبيل فسفات البنتوز. (P: $-PO_3^{2-}$، PRPP: 5- فسفوريبوزيل –1 فسفات).

يولد الطور غير التأكسدي طلائع الريبوز:

يعمل الريبوليكوز ـ فسفات كركيزة لإنزيمين مختلفين. أولهما 3 – إبيميراز الريبوليكوز 5 – فسفات الذي يبدل الهيئة الفراغية حول الكربون 3، مشكلاً بذلك الإبيمير (المصاوغ الصنوي) الزيلولوز 5– فسفات وهو بنتوز كيتوني آخر. والثاني إنزيم كيتوأيزوميراز الريبوز 5– فسفات الذي يحول الريبوليكوز 5– فسفات إلى البنتوزالألدهيدي الموافق أي الريبوز 5– فسفات وهو طليعة ثمالات الريبوز اللازمة في تخليق النوكليوتيدات والأحماض النووية.

يقوم الترانس كيتولاز بنقل وحدة ثنائية الكربون المؤلفة من الكربونين 1 و 2 من الكيتوز إلى الكربون الألدهيدي للسكر الألدوزي. فهو بذلك يفعل تحول سكر كيتوزي (كيتوني) إلى آخر ألدوزي أقل بذرتي كربون ويحول بالوقت نفسه سكراً ألدوزياً (ألدهيدي) إلى سكر كيتوزي أكبر بذرتي كربون. ويتطلب هذا التفاعل ڤيتامين المجموعة B الثيامين بشكل التميم الإنزيمي الثيامين ثنائي الفسفات إضافة لإيونات Mg^{2+}. وعلى الأرجح يكون الجزء ثنائي الكربون المنقول هو الجليكول ألدهيد المرتبط بالثيامين ثنائي الفسفات. وبذلك، فإن الترانس كيتولاز يحفز نقل وحدة ثنائية الكربون من الزيلولوز 5 – فسفات إلى الريبوز 5– فسفات، فينتج كيتوزاً سباعي الكربون هو سيدوهبتولوز 7 – فسفات وألدوزاً هو جليسرألدهيد 3– فسفات. ثم يدخل هذان الناتجان إلى تفاعل آخر يعرف بنقل الألدول (Transaldolation) (نقل الألدهيد) حيث يسمح إنزيم ترانس ألدولاز بنقل جزء ثنائي هيدروكسي الأسيتون ثلاثي الكربون (ذرات الكربون $1 \longrightarrow 3$) من الكيتوز سيدوهبتولوز 7– فسفات إلى الألدوز جليسرألدهيد 3 – فسفات ليتشكل الكيتوز الفركتوز 6 – فسفات والألدوز رباعي الكربون الإريثروز 4 – فسفات.

ويجري تفاعل آخر يتضمن الترانس كيتولاز أيضاً، يعمل فيه الزيلولوز 7– فسفات كمانح للجليكوألدهيد. وفي هذه الحالة، يعمل الإريثروز 4 – فسفات المتشكل سابقاً كمتقبل، ونواتج التفاعل هي الفركتوز 6 – فسفات والجليسر ألدهيد 3 – فسفات.

لكي تنجز أكسدة الجلوكوز بالكامل إلى CO_2 عن طريق سبيل فسفات البنتوز،

فمن الضروري أن تكون الإنزيمات موجودة في النسيج لكي تحول الجليسرألدهيد 3 – فسفات إلى الجلوكوز 6– فسفات. وهي تتضمن إنزيمات سبيل تحلل السكر التي تعمل في الاتجاه المعاكس، بالإضافة إلى إنزيم سبيل استحداث السكر 1، 6 ثنائي فسفاتاز الفركتوز. حيث في حال غياب هذا الإنزيم، فإن الجليسرألدهيد 3 – فسفات يسلك السبيل الاعتيادي لتحلُّل السكر نحو البيروڤات.

يتشارك السبيلان الرئيسان لتقويض الجلوكوز في نقاط قليلة:

على الرغم من أن بعض المستقلبات تكون مشتركة في كلا السبيلين، كالجلوكوز 6 – فسفات، فإن سبيل فسفات البنتوز يختلف بشكل ملحوظ عن تحلل السكر. فالأكسدة تجري في تفاعلات الأول باستخدام الـ NADP عوضاً عن الـ NAD، أما الـ CO_2 الذي لا ينتج مطلقاً في سبيل تحلُّل السكر، فهو يعد الناتج المميز لسبيل البنتوز فسفات، كما أنه لا يتولد الـ ATP في سبيل البنتوز فسفات في حين يشكل ذلك الوظيفة الرئيسة لتحلل السكر. وتتولد فسفات الريبوز في سبيل البنتوز فسفات وليس في تحلُّل السكر.

تتولد المكافئات المرجعة في تلك الأنسجة المتخصصة بالتخليق الإرجاعي:

تشير تقديرات فعالية سبيل فسفات البنتوز في الأنسجة المختلفة إلى أهميته الأيضية. فهو نشيط في الكبد والنسيج الشحمي وقشر الكظر والغدة الدرقية والكريات الحمراء والخصى وغدة الثدي بالإرضاع. في حين أنه غير نشيط في غدة ثدي غير المرضعة. كما تكون فاعليته منخفضة في العضلات الهيكلية، وتستخدم كافة الأنسجة، التي يكون هذا السبيل نشيطاً فيها، الـ NADPH في عمليات التخليق الإرجاعي، مثل تخليق كل من الأحماض الدهنية والستيرويدات والأحماض الأمينية عن طريق نازعة هيدروجين الجلوتامات، أو الجلوتاثيون المرجع في الكريات

الحمراء. ومن المرجح أن وجود تكون فعال للشحم أو وجود جملة تستعمل الـ $NADP^+$ لإنتاج NADPH، سوف ينبه حدوث تدرك نشيط للجلوكوز من خلال سبيل فسفات البنتوز. وقد يتحرض كذلك تخليق كل من نازعة هيدروجين الجلوكوز 6– فسفات ونازعة هيدروجين 6– فسفوجلوكونات بتأثير الإنسولين في أثناء الحالات المترافقة مع حالة الشبع (الجدول 21-1).

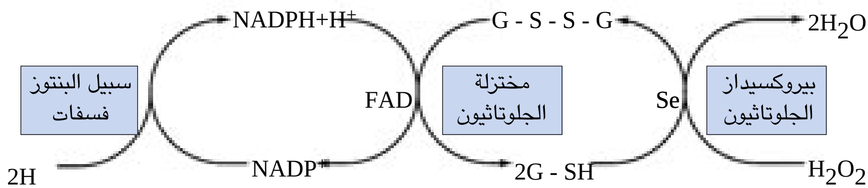
يمكن تخليق الريبوز في كافة الأنسجة فعلياً:

يؤمن سبيل البنتوز فسفات ثمالات الريبوز من أجل تخليق النوكليوتيدات والأحماض النووية (الشكل 22-2). والمصدر هو الريبوز 5– فسفات المتوسط الذي يتفاعل مع ATP لتشكيل PRPR المستخدم في التخليق الحيوي للنوكليوتيدات (الفصل 36). ويحوي النسيج العضلي كميات ضئيلة جداً فقط من نازعة هيدروجين الجلوكوز 6– فسفات ونازعة هيدروجين 6– فسفوجلوكونات. وعلى الرغم من ذلك، فإن العضلات الهيكلية، على غرار معظم الأنسجة الأخرى، قادرة على تخليق الريبوز 5– فسفات لتخليق النوكليوتيدات. وينجز ذلك بانعكاس الطور غير التأكسدي لسبيل فسفات البنتوز الذي يستعمل الفركتوز 6– فسفات وبهذا الشكل، فإنه ليس من الضروري أن يقوم سبيل البنتوز فسفات بوظيفته بشكل كامل ليقوم النسيج بتخليق فسفات الريبوز. ولا يعد الريبوز مكوناً مهماً في الدم الجهازي. وبناء عليه، فإن على الأنسجة أن تؤمن حاجتها الخاصة من هذه الطليعة المهمة للنوكليوتيدات.

يساعد سبيل فسفات البنتوز إنزيم بيروكسيداز الجلوتاثيون في حماية الكريات الحمراء من الإنحلال الدموي:

يوفر سبيل فسفات البنتوز في الكرية الحمراء الـ NADPH لإرجاع الجلوتاثيون المؤكسد إلى الجلوتاثيون المرجع بتحفيز مختزلة الجلوتاثيون (Glutathione reductase)، وهو إنزيم فلاڤو بروتيني يحوي الـ FAD. حيث يقوم الجلوتاثيون

المرجع بدوره بإزالة الـ H_2O_2 من الكرية الحمراء بتفاعل يحفزه بيروكسيداز الجلوتاثيون (Glutathione peroxidase)، وهو إنزيم يحوي العنصر الزهيد السيلينيوم (Se) (الشكل 22-3). وهذا التفاعل مهم، لأن تراكم الـ H_2O_2 قد يؤدي إلى تناقص مدى عمر الكرية الحمراء عن طريق ارتفاع معدل أكسدة الهيموجلوبين إلى الميتهيموجلوبين (الهيموجلوبين المتبدل Methemoglobin).



الشكل 22-3: دور سبيل فسفات البنتوز في تنظيم تفاعل بيروكسيداز الجلوتاثيون في الكريات الحمراء. (G-S-S-G: الجلوتاثيون المؤكسد؛ G-SH: الجلوتاثيون المرجع؛ Se: السيلينيوم التميم العامل).

الجلوكورونات، طليعة البروتيوجليكانات (الجليكانات البروتينية) والجلوكورونيدات المقترنة، هي من نواتج سبيل حمض اليورونيك:

إلى جانب السبل الرئيسية لأيض الجلوكوز 6– فسفات، والتي نوقشت فيما سبق، يوجد سبيل في الكبد لتحويل الجلوكوز إلى كل من حمض الجلوكورونيك وحمض الأسكوربيك والبنتوزات ويعرف هذا بسبيل حمض اليورونيك (Uronic acid). كما أنه سبيل بديل لأكسدة الجلوكوز، لكنه على غرار سبيل فسفات البنتوز، لا يؤدي إلى توليد الـ ATP. وتتشكل الجلوكورونات في سبيل حمض اليورونيك بدءاً من الجلوكوز بتفاعلات مبينة في الشكل 22-4 حيث يتحول الجلوكوز 6– فسفات إلى الجلوكوز 1– فسفات، الذي يتفاعل بعد ذلك مع ثلاثي فسفات اليوريدين (UTP) لتشكيل النوكليوتيد النشيط جلوكوز ثنائي فسفات اليوريدين (UDPGlc).

ويحفز هذا التفاعل الأخير إنزيم بيروفسفوريلاز (UDPGlc) (UDPGlcpyrophosphorylase) إن كافة الخطوات حتى هذه النقطة هي ذاتها التي تمت مناقشتها سابقاً في سبيل تكوُّن الجليكوجين في الكبد (الفصل 20). ثم يؤكسد الـ UDPGlc في الكربون 6 بعملية من خطوتين لتتشكل الجلوكورونات. ويكون ناتج الأكسدة، التي تحفزها نازعة هيدروجين UDPGlc المعتمد على NAD، هو UDP– جلوكورونات.

إن UDP – جلوكورونات هو الشكل النشيط للجلوكورونات في التفاعلات التي تتضمن انجبال (Incorporation) حمض الجلوكورونيك بالجليكانات البروتينية، أو في التفاعلات التي تقترن فيها الجلوكورونات بركائز مثل الهرمونات الستيرويدية أو بعض الأدوية، أو بالبيلروبين وذلك قبل إفراغها (الشكل 34-13).

ويتم إرجاع الجلوكورونات إلى L– جولونات في تفاعل معتمد على NADPH. حيث أن مركب L– جولونات هو الطليعة المباشرة للأسكوربات (Ascorbate) عند تلك الحيوانات القادرة على تليق هذا الفيتامين. أما عند الإنسان والرئيسات الأخرى، وكذلك خنزير غينيا، فمن غير الممكن تخليق حمض الأسكوربيك بسبب افتقادها للإنزيم المسؤول أي أكسيداز L– جولونولاكتون.

ثم يؤكسد L– جولونات إلى 3– كيتو– L– جولونات، الذي يخضع بعد ذلك لنزع كربوكسيل ليعطي بنتوزاً هو L– زيلولوز، الذي يتحول إلى المصاوغ D أي الزيليتول (Xylitol) بتفاعل إرجاع معتمد على الـ NADPH، ثم يلي ذلك تفاعل أكسدة معتمد على NAD ليتشكل D– زيلولوز. وهذا بعد تحوله إلى D– زيلولوز 5– فسفات، يتأيض إضافياً في سبيل فسفات البنتوز.

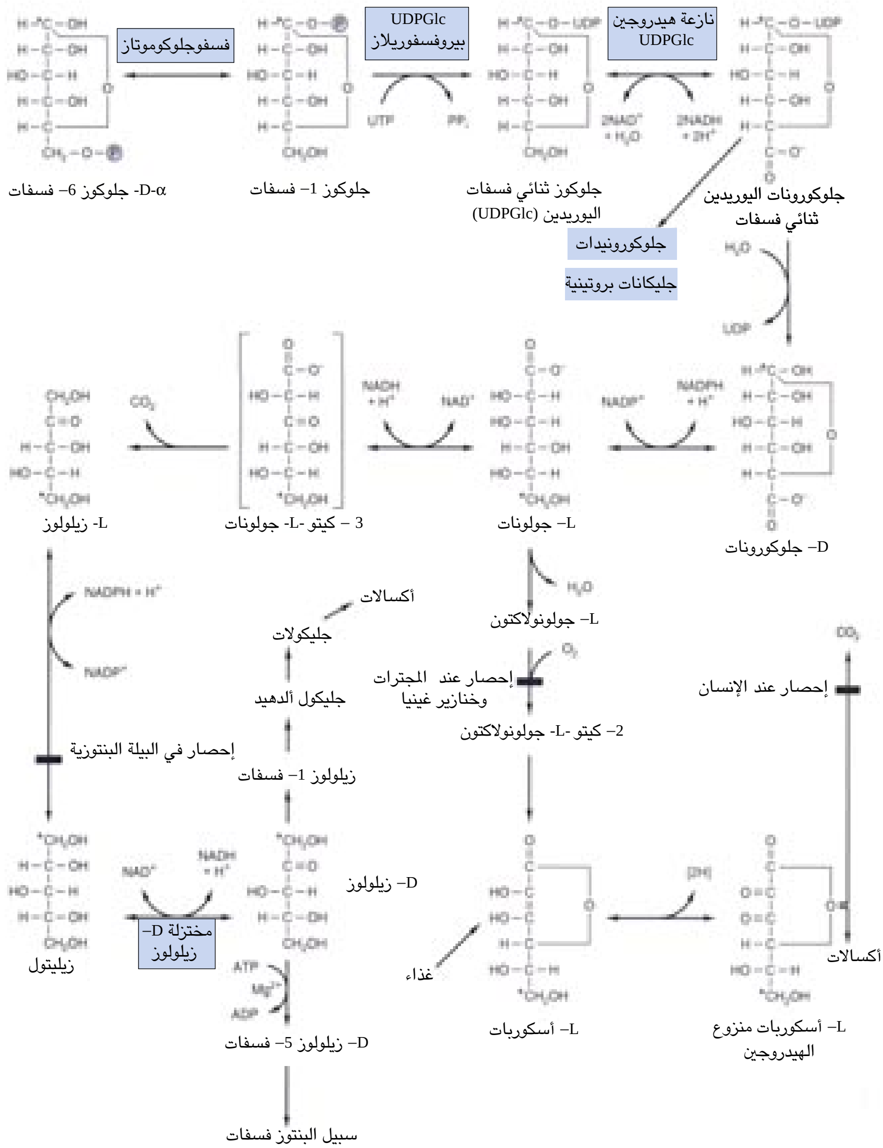
يؤدي تناول كميات كبيرة من الفركتوز إلى عواقب أيضية عميقة:

إن الأطعمة عالية المحتوى من السكروز أو الأشربة الغنية بالفركتوز (HFS) والتي تستخدم في الأغذية والأشربة المصنوعة (المعلبة) تؤدي إلى دخول كميات كبيرة من الفركتوز (والجلوكوز) إلى الوريد البابي الكبدي.

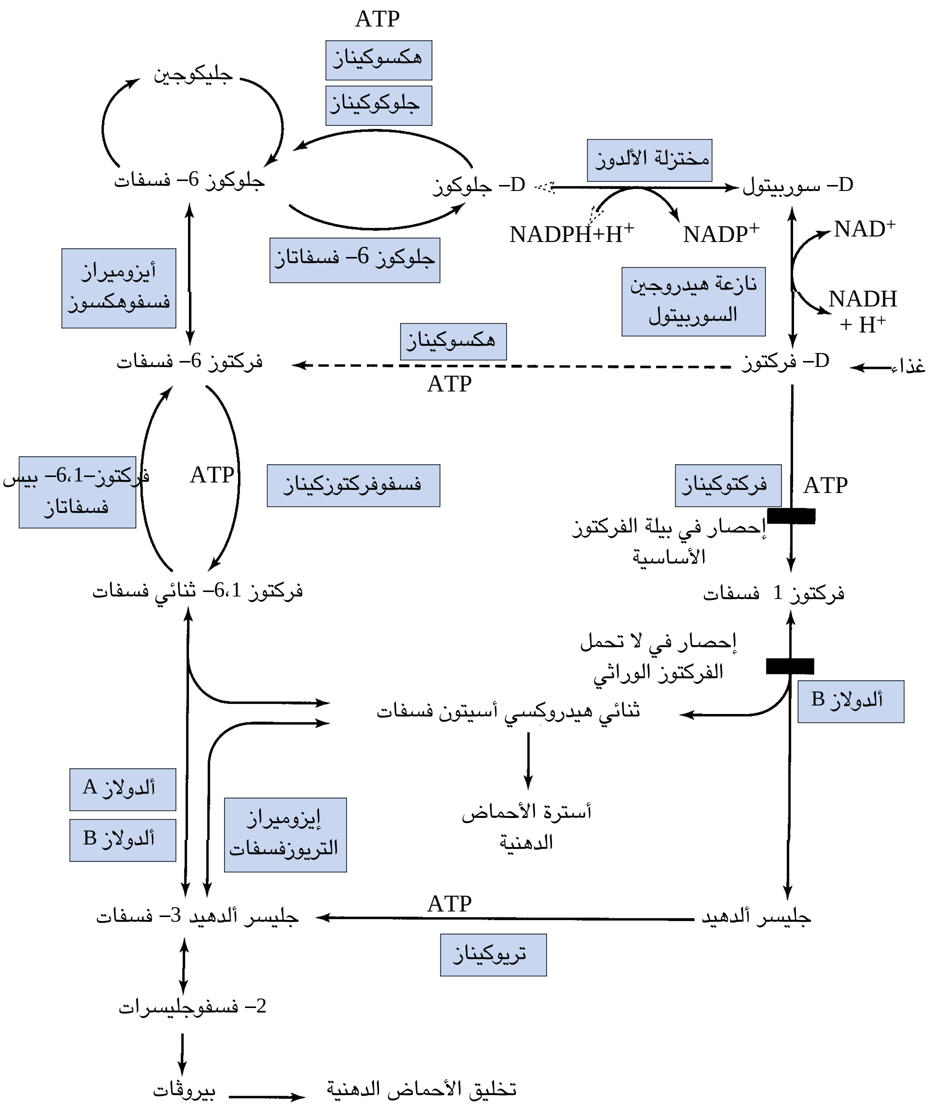
يتحلل الفركتوز في الكبد بسرعة أكبر من الجلوكوز. وذلك لأنه يتجاوز تلك الخطوة في سبيل أيض الجلوكوز المحفزة بالفسفو فركتوكيناز، وهي النقطة التي يمارس فيها مراقبة أيضية على معدل تقويض الجلوكوز (الشكل 22-5). وهذا يسمح للفركتوز بأن يشبع السبل في الكبد مما يؤدي إلى تعزيز تخليق الأحماض الدهنية وزيادة أسترتها وزيادة إفراز الـ VLDL الذي قد يرفع ثلاثيات أسيل الجليسيرول في المصل، ويرفع بالنهاية تراكيز كوليسترول ـ LDL (الشكل 27-7). كما أن الجلوكوز الإضافي المأخوذ إلى مجرى الدم ينبه إفراز المزيد من الإنسولين، وهذا بدوره يعزز جميع هذه الأفعال.

يوجد في الكبد إنزيم كيناز نوعي هو الفركتوكيناز (Fructokinase) الذي يفعل نقل الفسفات من الـ ATP إلى الفركتوز مشكلاً الفركتوز 1– فسفات. وتبين أيضاً أنه موجود في كل من الكلية والأمعاء. لكن لا يقوم هذا الإنزيم بفسفتة الجلوكوز، وخلافاً للجلوكوكيناز، فإن فعاليته لا تتأثر بالصيام أو بالإنسولين، وهذا قد يفسر لماذا يختفي الفركتوز من دم المرضى بداء السكري بمعدل سوي. وتكون قيمة K_m للإنزيم بالنسبة للفركتوز منخفضة جداً في الكبد، مما يشير إلى أن ألفة الإنزيم تجاه ركيزته تكون عالية جداً. ويبدو من المحتمل أن يكون هذا هو الطريق الرئيس لفسفتة الفركتوز.

ثم ينشطر الفركتوز 1– فسفات إلى D– جليسر ألدهيد وفسفات ثنائي هدركسي الأسيتون بواسطة الألدولاز Aldolase B) B) ، وهو إنزيم موجود في الكبد، ويقوم بوظيفته أيضاً في سبيل تحلل السكر بالكبد بمهاجمة الفركتوز 1، 6– ثنائي الفسفات. ويستطيع D– جليسر ألدهيد الدخول إلى سلسلة تفاعلات تحلل السكر عن طريق إنزيم آخر موجود في الكبد هو تريوكيناز (Triokinase)، الذي يحفز فسفتته إلى الجليسر ألدهيد 3 – فسفات. وقد يكون من الممكن أن يتدرك كل من مركبي فسفات التريوز: فسفات ثنائي هيدروكسي الأسيتون والجليسرالدهيد 3 – فسفات، وذلك بسبيل تحلُّل السكر أو أنهما قد يتحدان تحت تأثير الألدولاز ومن ثم يتحولان إلى الجلوكوز. حيث أن هذا الأخير هو مصير الكثير من الفركتوز المتأيض في الكبد.



الشكل22-4: سبيل حمض اليورونيك. (تشير النجمة إلى مصير الكربون 1 من الجلوكوز؛ Ⓟ $-PO_3^{2-}$)



الشكل 22-5: أيض الفركتوز. يوجد الألدولاز A في جميع الأنسجة، في حين أن الألدولاز B يكون الشكل السائد في الكبد. تعني النجمة أنه غير موجود في الكبد.

يحفز الهكسوكيناز فسفتة معظم السكاكر الهكسوزية (السداسية)، بما فيها الفركتوز، في الأنسجة خارج الكبد. لكن عندما يوجد الفركتوز مع الجلوكوز، فإن فسفتته تتثبط بالجلوكوز بشكل كبير. ومع ذلك، فعلى الأرجح أنه بوساطة هذا الطريق يمكن أيض بعض الفركتوز في النسيج الشحمي والعضلات. ويوجد الفركتوز الحر في البلازما المنوية وهو يفرز بكمية كبيرة في الدوران الجنيني عند كل من ذوات الحافر والحيتان، في حين أنه يتراكم في السائل السلوي (Amniotic) والسائل السقائي (Allantoic). وهو في كل هذه الحالات يمثل مصدراً كامناً للوقود. يوجد إنزيم ردكتاز الألدوز في مشيمة النعجة، وهو مسؤول عن إفراز السوربيتول إلى الدم الجنيني. وإن وجود نازعة هيدروجين السوربيتول في الكبد، بما فيه كبد الجنين، يكون مسؤولاً عن تحول السوربيتول إلى فركتوز. كما أن هذا السبيل مسؤول أيضاً عن وجود الفركتوز في السائل المنوي.

يلزم الجالاكتوز لتخليق كل من اللاكتوز والشحميات السكرية والبروتينات السكرية:

يشتق الجالاكتوز من الحلمهة المعوية لثنائي السكريد اللاكتوز أي سكر الحليب. وهو يتحول بسرعة في الكبد إلى الجلوكوز. ويمكن استخدام قدرة الكبد على تحقيق هذا التحول كاختبار للوظيفة الكبد ضمن اختبار تحمل الجالاكتوز (Galactose tolerance test). ويبين (الشكل 22-6) السبيل الذي يتم به تحول الجالاكتوز إلى جلوكوز. حيث تتم أولاً فسفتة الجالاكتوز بمساعدة إنزيم الجالاكتوكيناز (Galactokinase) باستخدام الـ ATP.

كمانح للفسفات. ثم يتفاعل الناتج، الجالاكتوز 1– فسفات، مع الـ UDPGLc ليتشكل جالاكتوز ثنائي فسفات اليوريدين (UDPGal) والجلوكوز 1– فسفات. حيث يحل في هذه الخطوة الجالاكتوز مكان الجلوكوز في الـ UDPGLc بتحفيز إنزيم يسمى ترانسفيراز (ناقلة) اليوريديل جالاكتوز 1– فسفات. ويجرى تحول الجالاكتوز إلى الجلوكوز في تفاعل ضمن النوكليوتيد، الذي يحوي الجالاكتوز

بتحفيز الإبيميراز (Epimerase)، والناتج هو UDPGlc. حيث يتضمن تفاعل المصاوغة (Epimerization) على الأغلب تفاعلي أكسدة وإرجاع في الكربون 4 بالـ NAD^+ كتميم إنزيمي. ويتحرر الجلوكوز في النهاية من الـ UDPGlc بعد أن يتحول إلى الجلوكوز 1– فسفات، من المحتمل عن طريق الانجبال في الجليكوجين الذي يتبعه تفاعل الفسرلة (Phosphorolysis). بما أن تفاعل الإبيميراز (التصاوغ) هو عكسي تماماً، فيمكن للجلوكوز أن يتحول إلى الجالاكتوز، بحيث أن الجالاكتوز المتشكل مسبقاً يكون غير ضروري في الغذاء. ويلزم الجالاكتوز في الجسم ليس فقط لتشكيل اللاكتوز بل وأيضاً كمكون في الشحميات السكرية (السيريبروزيدات) والجليكانات البروتينية والبروتينات السكرية. يتحول الجلوكوز، عند تخليق اللاكتوز بغدة الثدي، إلى UDPGa بواسطة الإنزيمات المذكورة أعلاه. ثم يتكاثف الـ UDPGal مع الجلوكوز ليعطي اللاكتوز، بتحفيز سنتاز اللاكتوز (الشكل 22-6).

الجلوكوز هو طليعة جميع السكاكر الأمينية (الهكسوزأمينات):

إن السكاكر الأمينية مكونات مهمة في البروتينات السكرية (Glycoproteins) (الفصل 56)، وفي بعض الشحميات السفنجولية السكرية (Glycosphingolipids) (كالجنجليوزيدات) (الفصل 16)، وفي مركبات الجليكوز أمينوجليكان (Glycosaminoglycans) (الفصل 57). حيث أن السكاكر الأمينية الرئيسة هي الجلوكوز أمين والجالاكتوز أمين والمانوز أمين (كل هذه هكسوز أمينات أي سكاكر سداسية أمينية) والمركب المؤلف من تسع ذرات كربون: حمض السياليك. الجدير ذكره هنا أن حمض السياليك الأساسي الموجود في الأنسجة البشرية هو حمض N– أسيتيل نورأمينيك (N- acetylneuraminic acid;Neu Ac). ويعرض الشكل 22-7 موجزاً عن العلاقات القائمة بين السكاكر الأمينية، وفيما يلي ملامحها المهمة:

1– الجلوكوز أمين هو السكر الأميني الرئيسي. وهو يتشكل من الفركتوز 6– فسفات، بشكل جلوكوز أمين 6– فسفات، باستخدام الجلوتامين كمانح للزمرة الأمينية.

2 – توجد السكاكر الأمينية بالدرجة الأولى بالشكل N– المؤستل. حيث أن الأسيتيل -CoA هو مانح الأسيتيل.

3 – يتشكل N– أسيتيل مانوز أمين 6– فسفات بتصاوغ N– أسيتيل جلوكوز أمين 6– فسفات.

4 – يتشكل Neu Ac بتكاثف N– أسيتيل مانوز أمين 6 – فسفات مع الفسفوإينول بيروڤات.

5 – يتشكل الجالاكتوز أمين بتصاوغ UDP- N أسيتيل جلوكوز أمين (UDPGlc NAc) ليعطي UDP- N- أسيتيل جالاكتوز أمين.

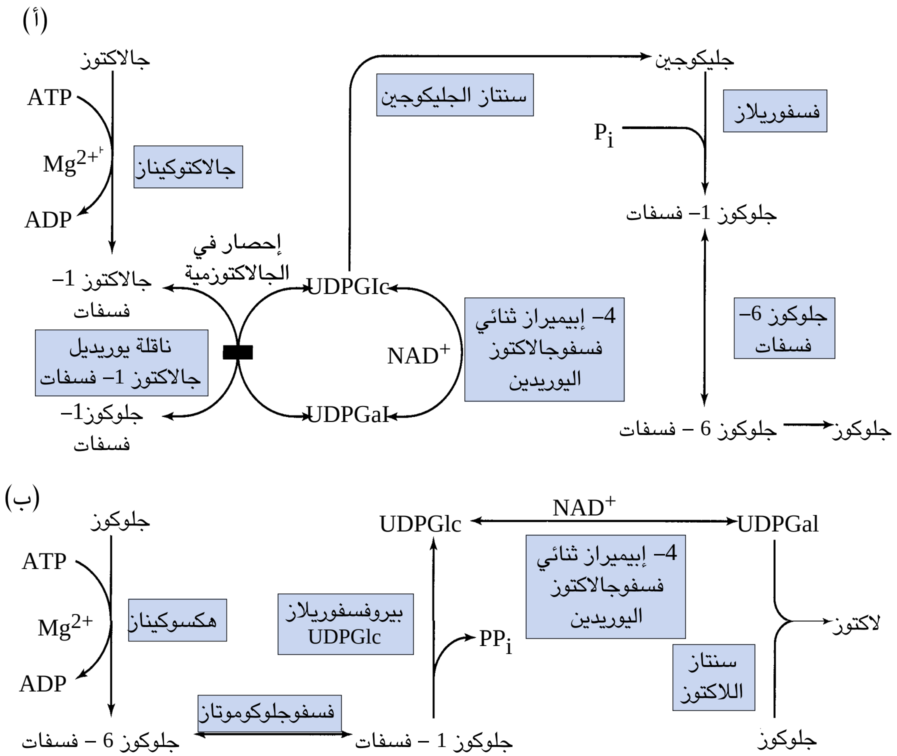
6 – السكاكر النوكليوتيدية هي الأشكال التي تستخدم فيها السكاكر الأمينية للتخليق الحيوي لكل من البروتينات السكرية والمركبات المعقدة الأخرى؛ ومن النوكليوتيدات المهمة التي تحوي سكاكر أمينية نذكر UDPGlcNAc، و UDPGaINAc، و cMP- Neu Ac.

المظاهر السريرية:

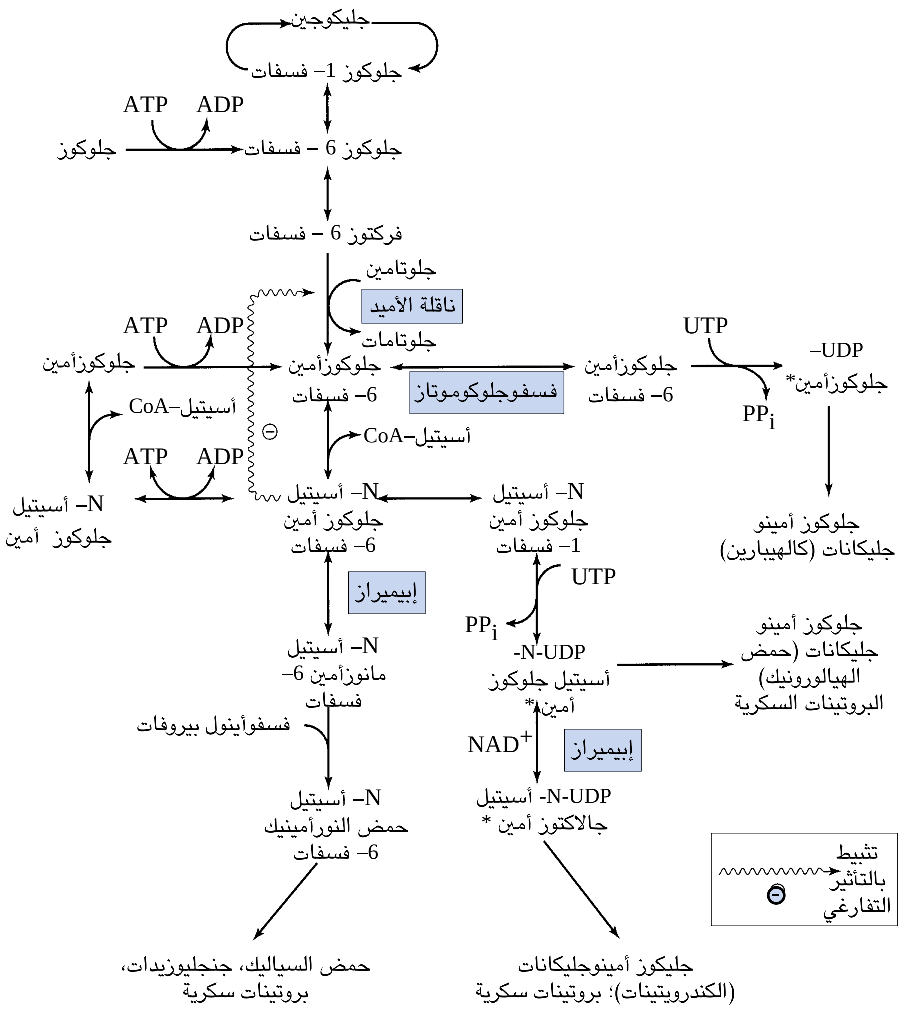
يؤدي الاضطراب في سبيل فسفات البنتوز إلى انحلال الكريات الحمراء:

يسبب وجود طفرة عند بعض الأفراد عوزاً في نازعة هيدروجين الجلوكوز 6– فسفات مما يؤدي إلى ضعف في توليد الـ NADPH. ويتظاهر هذا الاضطراب بانحلال الكريات الحمراء عندما يتعرض الفرد المتأثر للمؤكسدات (Oxidants) مثل البريماكين (Primaquine) مضاد الملاريا أو الأسبرين أو السلفوناميدات، أو عندما يتناول هذا الفرد نبات الفول (الفوال Favism). من جانب آخر، يعد بيروكسيداز الجلوتاثيون مضاد أكسدة موجود بالحالة السوية في العديد من الأنسجة ويعتمد على توافر NADPH بشكل مستمر. وهو يهاجم البيروكسيدات العضوية إضافة لبيروكسيد الهيدروجين H_2O_2. وهو إلى جانب الڤيتامين E، يشكل جزءاً من وسائل دفاع الجسم ضد الأكسدة الفائقة للشحوم (الشكل 16-27). وتبين وجود علاقة بين

حدوث بعض أنماط السرطان والمستويات المنخفضة لكل من السيلينيوم في الدم وفاعلية بيروكسيداز الجلوتاثيون. ومن الممكن استخدام قياس فعالية الترانس كيتولاز (ناقلة الكيتول) في الدم لتقدير درجة عوز الثيامين. حيث أن الحالة الوحيدة التي تكون فيها هذه الفعالية مرتفعة هي فقر الدم الوبيل (Pernicious anemia).



شكل 22-6: سبيل (أ) تحويل الجالاكتوز إلى جلوكوز في الكبد، و (ب) تحويل الجلوكوز إلى لاكتوز في غدة الثدي المرضعة.



شكل 22-7: خلاصة العلاقات المتبادلة في أيض السكاكر الأمينية. (عند النجمة: مضاهئات الـ (UDPGlc). قد تكون نوكليوتيدات بورينية أو بيريميدينية أخرى مرتبطة على نحو مشابه بالسكاكر أو بالسكاكر الأمينية. وكأمثلة على ذلك نذكر ثنائي فسفات الثيميدين (TDP) ـ جلوكوز أمين و N-TDP ـ أسيتيل جلوكوز أمين.

يتعطل سبيل حمض اليورونيك بسبب عيوب إنزيمية وبعض الأدوية:

تظهر في البول كميات كبيرة من L ـ زيلولوز (L-xylulose) في المرض الوراثي النادر المسمى بيلة البنتوز الأساسية. ويمكن تفسير هذه المعطيات بغياب الإنزيم اللازم لإرجاع L ـ زيلولوز إلى الزيليتول (Xylitol) عند المرضى المصابين بالبيلة البنتوزية. وقد يؤدي إعطاء الزيليتول حقناً (Parenterally) إلى الداء الأوكسالي (Oxalosis) الذي تترسب فيه أكسالات الكالسيوم في الدماغ والكلى. وينتج ذلك عن تحول D– زيلولوز إلى الأكسالات عبر تشكيل كل من الزيلولوز 1– فسفات والجليكو ألدهيد والجليكولات (الشكل 22-4).

وتسبب أدوية متعددة ازدياداً واضحاً في معدل دخول الجلوكوز إلى سبيل حمض اليوروني. فعلى سبيل المثال، يؤدي إعطاء الباربيتال (Barbital). أو الكلوروبوتانول للجرذان إلى ازدياد كبير في تحول الجلوكوز إلى الجلوكورونات وL– جولونات والأسكوربات. كما تبين أن كل من الأمينوبيرين والأنتيبيرين يزيدان إفراغ L– زيلولوز عند الأفراد المصابين بالبيلة البنتوزية.

إن تحميل الكبد بالفركتوز قد يرفع درجة كل من فرط ثلاثي أسيل الجليسرول في الدم وفرط كوليسترول الدم وفرط حمض اليوريك في الدم:

تم فيما مضى الإشارة إلى تأثيرات الفركتوز في الأيض الكبدي حيث أنه يعزز (Promote) تخليق ثلاثي أسيل الجليسرول وإفراز الـ VLDL وفرط ثلاثي أسيل الجليسرول في الدم – وأن هذا يمكن أن يؤدي إلى ارتفاع تراكيز كوليسترول LDL– ويمكن النظر إلى جميع هذه الحالات على أنها عوامل مولدة بقوة للتصلب (العصيدة) (الفصل 28). بالإضافة إلى ذلك، إن تحميل الكبد بالفركتوز بشكل حاد، وهي الحالة التي يمكن أن تحدث عند تسريب الفركتوز داخل الوريد أو حتى عند تناول كمية كبيرة منه، يسبب انفصال (Sequestration) (تراكد) الفسفات اللاعضوية في الفركتوز 1– فسفات وتناقصاً في تخليق الـ ATP. وينتج عن ذلك زوال التثبيط المسبب بالـ AT لإنزيمات تدرك نوكليوتيدات الأدينين وتسارع تشكل

حمض اليوريك مما يؤدي لفرط حمض اليوريك في الدم (Hyperuricacidemia)، الذي هو سبب للإصابة بالنقرس (Gout) (الفصل 36). وهذه التأثيرات ذات أهمية خاصة بالنسبة للأفراد الذين لديهم تأهب مسبق للإصابة بفرط ثلاثي أسيل الجليسرول في الدم أو بفرط حمض البوليك في الدم.

تسبب العيوب في أيض الفركتوز حدوث المرض (الشكل 22-5):

يسبب فقدان إنزيم الفركتوكيناز الكبدي حدوث البيلة الفركتوزية الأساسية، كما أن غياب الألدولاز B الكبدي، الذي يهاجم الفركتوز 1 – فسفات، يؤدي إلى لا تحمل الفركتوز الوراثي. وتعد الأطعمة منخفضة الفركتوز والسوربيتول والسكروز مفيدة لكلتا الحالتين. ولا يؤثر وجود عيب في الألدولاز B على نحو خطير في الفاعلية تجاه الفركتوز 1، 6– ثنائي الفسفات، بل يضعف فقط سبيل استحداث السكر بشكل طفيف.

إن إحدى نتائج لا تحمل الفركتوز الوراثي والحالة الأخرى الناجمة عن عوز 1، 6 ثنائي فسفاتاز الفركتوز هي نقص سكر الدم المحرض بالفركتوز على الرغم من وجود مدخرات كبيرة من الجليكوجين. ومن الواضح أن تراكم كل من الفركتوز 1– فسفات والفركتوز 1، 6– ثنائي الفسفات يثبط فاعلية الفسفوريلاز الكبدي بآلية تفارغية. كما يؤدي انفصال الفسفات اللاعضوية إلى نفاد الـ ATP وإلى فرط حمض اليوريك في الدم كما ذكرنا سابقاً.

يترافق وجود الفركتوز والسوربيتول في عدسة العين مع الساد (Cataract) السكري:

يوجد كل من الفركتوز والسوربيتول في عدسة العين عند الإنسان، حيث يزداد تركيزهما في الداء السكري وقد يكون لهما دور في إمراض (Pathogenesis) الساد السكري. ويكون سبيل السوربيتول (متعدد الهيدروكسيل) مسؤولاً عن تشكيل الفركتوز من الجلوكوز (لا يجري هذا السبيل في الكبد) (الشكل 22-5) وتزداد

فاعليته بارتفاع تركيز الجلوكوز بداء السكري في تلك الأنسجة غير الحساسة للإنسولين، أي عدسة العين والأعصاب المحيطية والكبيبات الكلوية. حيث يخضع الجلوكوز للإرجاع بوساطة NADPH إلى السوربيتول بتحفيز مختزلة الألدوز، ويلي ذلك أكسدة السوربيتول إلى الفركتوز بوجود NAD^+ ونازعة هيدروجين السوربيتول (نازعة هيدروجين متعدد الهيدروكسيل). وبما أن السوربيتول لا ينتشر بسهولة خلال الأغشية الخلوية فإنه يتراكم مسبباً أذية تناضحية، كما تنخفض مستويات الإينوزيتول العضلي الوقت نفسه. ويمكن منع حدوث كل من تراكم السوربيتول ونفاد الإينوزيتول العضلي والساد السكري باستخدام مثبطات مختزلة الألدوز عند الجرذان المصابة بالسكري، وتم الحصول على نتائج واعدة في الممارسة السريرية.

يتحول السوربيتول إلى الفركتوز أكثر من تحوله للجلوكوز وذلك عند إعطائه في الوريد، لكن إذا أخذ عن طريق الفم، فإن الكثير منه لا يمتص في الأمعاء ويتخمر في القولون بوساطة الجراثيم ليعطي نواتج مثل الأسيتات و H_2. وقد ينجم الألم البطني (لا تحمل السوربيتول) عن استخدام المُحِّليات (Sweeteners) الخالية من السكر والحاوية على السوربيتول.

يسبب عوز الإنزيمات في سبيل الجالاكتوز حدوث الجلاكتوزميا:

تحدث عدم القُدرة على أيض الجالاكتوز في حالات وجود الجالاكتوز في الدم (Galactosemias)، والتي قد تنجم عن عيوب وراثية إما في الجالاكتوكيناز، أو إما في ناقلة (ترانسفيراز) اليوريديل، أو أما في 4– إبيميراز (الشكل 22–A6)، مع أن حالة عوز ناقلة اليوريديل هي المعروفة بشكل أفضل. حيث يتم إرجاع الجالاكتوز، الذي يرتفع تركيزه في الدم بهذه الحالة، بوساطة ردكتاز الألدوز في العين ليعطي متعدد هيدروكسيل موافق (الجالاكتيتول Galactitol)، الذي يتراكم مسبباً الساد. وتكون الحالة العامة أكثر وخامة إذا كانت ناتجة عن عيب في ناقلة اليوريديل، لأنه يتراكم الجالاكتوز 1– فسفات، وتنفد الفسفات العضوية من الكبد. فيحدث في النهاية قصور كبدي وتردي (تخلف Deterioration) عقلي. إلا أنه مع ذلك، في حال

عوز ناقلة اليوريديل، يكون الإبيميراز موجوداً بكميات كافية، بحيث أن الفرد المُصاب بوجود الجالاكتوز في الدم يستطيع مواصلة تشكيل UDPGα 1 من الجلوكوز. وهذا يُفسر لماذا يحدث التطور والنمو السويين عند الأطفال المصابين، على الرغم من استخدام الأطعمة الخالية من الجالاكتوز للتحكم بأعراض هذا المرض. ومع ذلك، فإنه وبصرف النظر عن المعالجة، قد تظهر لدى المصابين بوجود الجالاكتوز في الدم مضاعفات عديدة طويلة الأمد مثل الخلل بالوظيفة العصبية. من جانب آخر، تم تحديد عدة عيوب وراثية مختلفة تسبب نقصاً بناقلة اليوريديل وليس عوزاً تاماً. وحيث أن الإنزيم يكون في الحالة السوية موجوداً بكميات زائدة، فإن تناقص فعاليته لـ 50 ٪ أو حتى لأقل من ذلك لا يسبب داء سريرياً، والذي يتظاهر بحد ذاته فقط عند متماثلي الزيجوت (متماثلي اللواقح). وتبين وجود عوز بالإبيميراز في الكريات الحمراء لكنه موجود في الكبد وبأماكن أخرى، ويظهر أن هذه الحالة الثالثة تكون بلا أعراض.

الخلاصة:

1 – إن سبيل فسفات البنتوز الموجود في العصارة الخلوية مسؤول عن أكسدة الجلوكوز بشكل تام، والنواتج الرئيسة هي NADPH و CO_2. ولا يولد هذا السبيل الـ ATP.

2– للسبيل طور تأكسدي غير عكسي يولد NADPH، وطور آخر غير تأكسدي عكسي يؤمن طلائع الريبوز لتخليق النوكليوتيدات بما فيها RNA و DNA. ويوجد السبيل الكامل فقط في تلك الأنسجة التي تحتاج لـ NADPH من أجل التخليق الإرجاعي، مثل تكون الشحم أو تكون الستيرويدات، في حين يوجد الطور غير التأكسدي في كل الخلايا المحتاجة للريبوز.

3 – للسبيل في الكريات الحمراء وظيفة أساسية هي منع انحلال الدم عن طريق تأمين NADPH للمحافظة على الجلوتاثيون في الحالة المرجعة (المختزلة). والجلوتاثيون بدوره ركيزة لبيروكسيداز الجلوتاثيون، الذي هو وسيلة لإزالة H_2O_2 الضار من الخلية.

4 – سبيل حمض اليورونيك هو مصدر حمض الجلوكورونيك، الذي يستخدم للاقتران مع العديد من المواد داخلية وخارجية المنشأ قبل إفراغها في البول بشكل جلوكورونيدات.

5 – يصل الفركتوز بسهولة إلى السبل الأيضية، متجاوزاً خطوة المراقبة الرئيسة في سبيل تحلل السكر المحفَّزة بوساطة الفسفوفركتوكيناز. وبذلك فهو ينبه تخليق الأحماض الدهنية وإفراز ثلاثي أسيل الجليسرول الكبدي. وهو مثل الجالاكتوز، يشكل الجلوكوز بسهولة في الكبد.

6 – يتم تخليق الجالاكتوز من الجلوكوز في غدة الثدي بالإرضاع وفي أنسجة أخرى حيث يكون ضرورياً لتخليق الشحميات السكرية والجليكانات البروتينية والبروتينات السكرية.

*** References:**

Couet C, Jan P, Debry G: Lactose and cataract in humans: *A review. J Am Coll Nutr* 1991;10:79.

Cox TM: Aldolase B and fructose intolerance. *FASEB J* 1994;8:62.

Cross NCP, Cox TM: Hereditary fructose intolerance. *Int J Biochem* 1990;22:685.

Kador PF: Tbe role of aldose reductase in the development of diabetic complications. *Med Res Rev* 1988;8:325.

Kaufman FR, Devgan S: Classical galactosemia: A review. *Endocrinologist* 1995;5:189.

Macdonald I, Vrana A (editors): *Metabolic Effects of Dietary Carbohydrates.* Karger, 1986.

Mayes PA: Intermediary metabolism of fructose. *Am J Clin Nutr* 1993;58:754S.

Randle PJ, Steiner DF, Whelan WJ (editors): *Carbohydrate Metabolism and Its Disorders*, vol 3. Academic Press, 1981.

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed. McGraw-Hill, 1 995.

van den Berghe G: Inborn errors of fructose metabolism. *Annu Rev Nutr* 1994;14:41.

Wood T: *The Pentose Phosphate Pathway.* Academic Press, 1985.

الفصل الثالث والعشرون

التخليق الحيوي للأحماض الدهنية

Biosynthesis of Fatty Acids

مقدمة:

على غرار العديد من عمليات التدرك والتخليق (مثل تحلل الجليكوجين وتكونه)، كان ينظر فيما مضى إلى سبيل تخليق الأحماض الدهنية (تكون الشحم) على أنه انعكاس فحسب لسبيل الأكسدة ضمن المتقدرات. إلا أنه، من الواضح الآن أن جملة نشيطة تقع خارج المتقدرات هي المسؤولة عن التخليق الكامل للبلميتات (النخيلات) بدءاً من أسيتيل تميم الإنزيم A (CoA-) في العصارة الخلوية. وهناك جملة أخرى متخصصة بإطالة سلسلة الحمض الدهني (Fatty acid chain elongation) موجودة أيضاً في الشبكة الهيولية الباطنية الكبدية.

الأهمية الطبية البيولوجية:

توجد اختلافات واسعة بين الأنواع في كل من توزع السبل الأساسية لتكون الشحم بين الأنسجة وفي الركائز الرئيسة لتخليق الأحماض الدهنية. فعند الجرذ، وهو النوع الذي وفر معظم المعلومات حول تكون الشحم، يوجد هذا السبيل في النسيج الشحمي والكبد، في حين أنه عند الإنسان قد لا يكون النسيج الشحمي ذلك الموقع المهم للسبيل، وهو يحدث في الكبد بفاعلية منخفضة. ويقتصر وجود سبيل تكون الشحم عند الطيور على الكبد، حيث يحظى بأهمية خاصة لأنه يؤمن

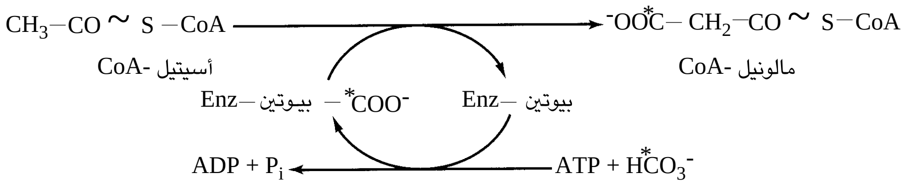
الشحوم عند تشكيل البيضة. إن الجلوكوز عند أغلب الثدييات هو الركيزة الأساسية لتكون الشحم، أما عند المجترات فالركيزة هي الأسيتات، الذي يعد جزيء الوقود الرئيسي الناتج من الغذاء، وهي تقوم كذلك بهذا الدور الإضافي. وحيث أن سبيل تكون الشحم ذو أهمية قليلة عند الإنسان، فليس مستغرباً عدم تسجيل حالات مرضية خطيرة ناجمة عن هذا السبيل. إلا أن الاختلافات في فاعليته بين الأفراد قد تؤثر في طبيعة ودرجة السمنة (Obesity)، وإن تثبيط تكون الشحم هي إحدى الآفات في النمط 1 من الداء السكري المعتمد على الإنسولين.

يجري السبيل الرئيس لتخليق الأحماض الدهنية (تكون الشحم) من جديد في العصارة الخلوية:

توجد هذه الجملة في معظم الأنسجة، بما فيها الكبد والكلية والدماغ والرئة وغدة الثدي والنسيج الشحمي. وتتضمن احتياجاتها من تمائم العامل كل من NADPH و ATP و Mn^{2+} والبيوتين و $HCO3^-$ (كمصدر لـ CO_2). أما الأسيتيل -CoA فهو ركيزة متوسطة وتكون البلميتات الحرة هي الناتج النهائي.

إنتاج مالونيل -CoA هي الخطوة الأولية والمتحكمة بتخليق الأحماض الدهنية:

يحتاج التفاعل الأولي إلى البيكربونات كمصدر لـ CO_2 لإتمام ضم الكربوكسيل (الكرسلة) (Carboxylation) لأسيتيل -CoA ليعطي مالونيل -CoA (Malonyl-CoA) بوجود الـ ATP وبتحفيز كربوكسيلاز أسيتيل -CoA، الذي يحتاج بعمله للبيوتين (الشكل 23-1). ويحوي هذا الإنزيم عدداً متغيراً من الوحيدات المتماثلة، تحوي كل منها البيوتين وكربوكسيلاز البيوتين والبروتين الحامل لكربوكسيل البيوتين والترانس كربوكسيلاز (ناقلة الكربوكسيل)، بالإضافة لمقر تنظيمي تفارغي. فهو بذلك بروتين متعدد الإنزيمات (Multienzyme protrein) ويجري التفاعل في خطوتين: (1) ضم الكربوكسيل للبيوتين (بمشاركة ATP؛ انظر الشكل 52-13) و (2) نقل الكربوكسيل إلى أسيتيل -CoA ليتشكل المالونيل -CoA.



الشكل 23-1: التخليق الحيوي لمالونيل CoA-Enz: كربوكسيلاز أسيتيل -CoA.

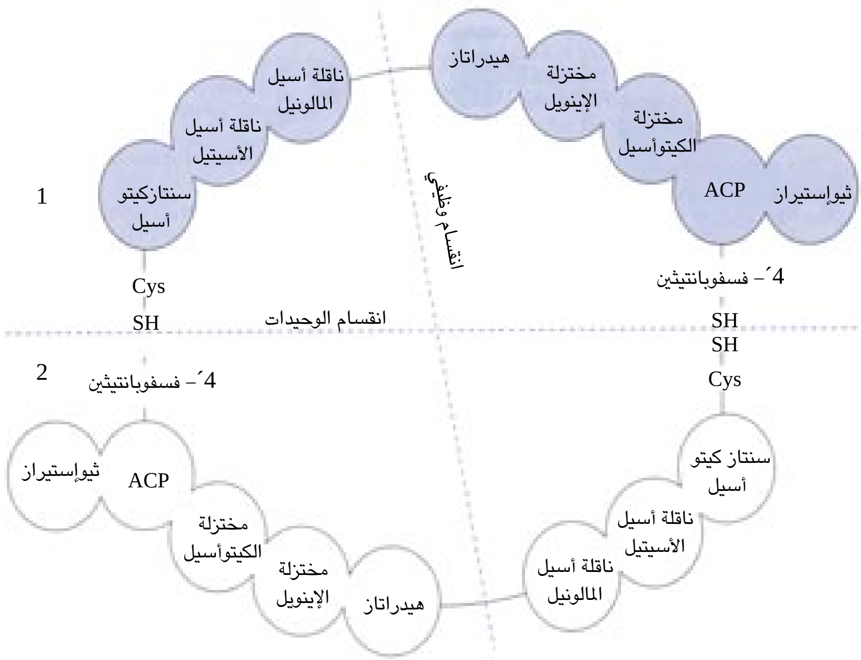
إن معقد سنتاز الحمض الدهني هو عديد ببتيد يحوي فعاليات سبعة إنزيمات:

يبدو أنه يوجد نمطان من سنتاز الحمض الدهني. ففي الجراثيم والنباتات والأشكال الدنيا، تكون الإنزيمات المستقلة في الجملة منفصلة، وجذور الأسيل متحدة مع بروتين يسمى البروتين الحامل للأسيل (ACP) (acyl carrier protein) إلا أنه في الخميرة والثدييات والطيور تكون جملة السنتاز بشكل معقد عديد الببتيد عديد الإنزيمات، والذي لا يمكن تقسيمه دون أن يفقد فاعليته، ويكون الـ ACP جزءاً من هذا المعقد. ويحوي الـ ACP بكل من الجراثيم والمعقد عديد الإنزيمات ڤيتاميناً هو حمض البانتوثينيك (Pantothenic acid) بشكل 4´– فسفوبانتيثين (الشكل 6-52). ويقوم الـ ACP، في هذه الجملة، بدور الـ CoA. إن تجمع جميع الإنزيمات الخاصة بسبيل معين ضمن وحدة وظيفية عديدة الإنزيمات، يعطي فاعلية كبيرة وتحرراً من التداخل الناجم عن التفاعلات المنافسة، فيتحقق بهذا الشكل تأثير تحاوز (Compartmentalization) (التواضع في حيز ما في الخلية بشكل نوعي غالباً). العملية داخل الخلية دون إقامة حواجز النفوذية. وهناك فائدة أخرى لعديد الببتيد عديد الإنزيمات المستقل هي أن تخليق كل الإنزيمات في المعقد يكون متناسقاً، لأنه يكون مرمزاً في جين واحد مستقل.

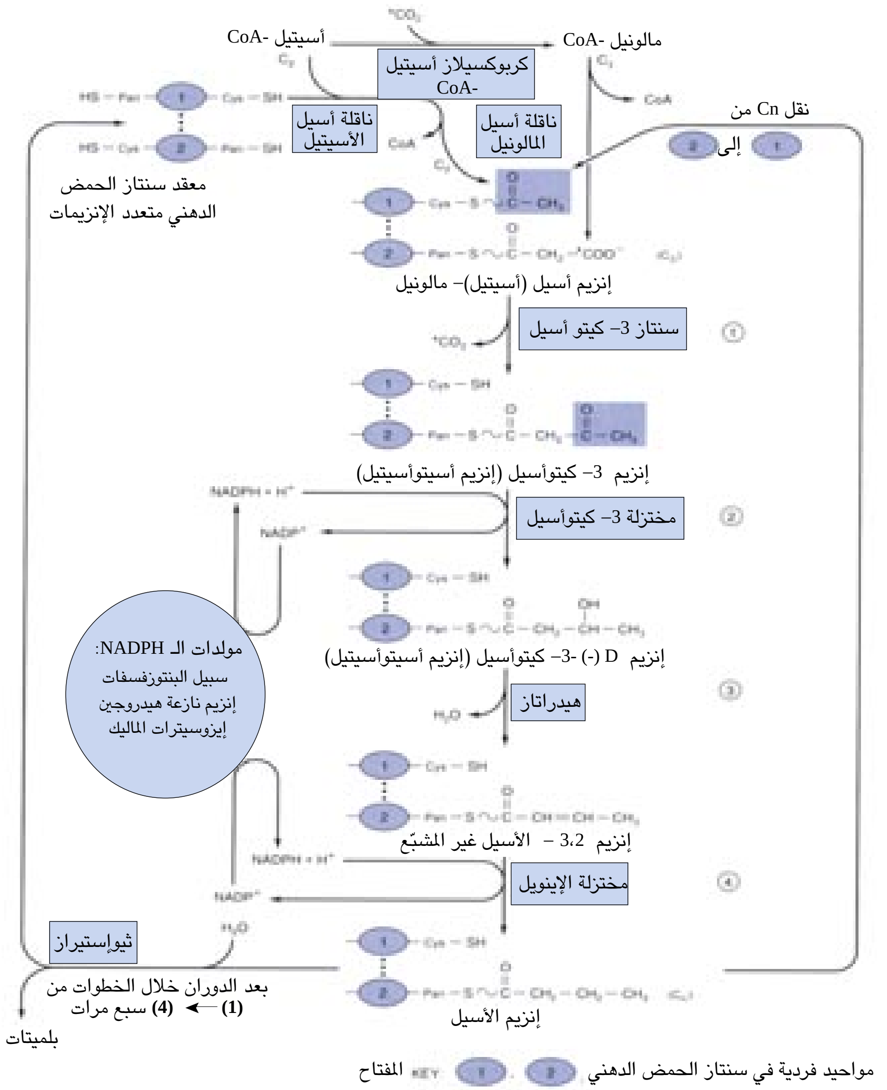
إن معقد سنتاز الحمض الدهني مثنوي (ثنائي المواحيد أو القسيمات) (Dimer) (الشكل 23-2). حيث يكون كل موحود (Monomer) مماثل للآخر عند الثدييات، ويتألف من سلسلة واحدة عديدة ببتيد متميزة تحوي فعاليات كل الإنزيمات السبع الخاصة بسنتاز الحمض الدهني وكذلك الـ ACP مع زمرة SH في 4´– فسفوبانتيثين، كما يوجد بجوار هذه الزمرة ثيول آخر في ثمالة السيستين الموجودة في سنتاز 3 – كيتو أسيل (إنزيم التكاثف) التابع للموحود الآخر (الشكل 23-2). ويحدث ذلك لأن كلا الموحودين يتوضعان بشكل «رأس إلى ذيل». وحيث أن زمرتي الثيول تشاركان في فعالية السنتاز، فإن الشكل المثنوي هو النشيط فقط.

إن الذي يحدث في البداية هو اتحاد الجزيء الأولي من أسيتيل -CoA مع زمرة SH من السيستين بتحفيز ناقلة أسيل الأسيتيل (Acetyl transacylase) (الشكل 23-3). ثم يتحد المالونيل -CoAمع زمرة SH المجاورة الموجودة على 4´– فسفوبانتيثين في الـ ACP من الموجود الآخر، بتحفيز ناقلة أسيل المالونيل، لتشكيل إنزيم أسيتيل (أسيل) ـ مالونيل. وبعد ذلك تقوم زمرة الأسيتيل بمهاجمة زمرة الميثيلين في ثمالة المالونيل بتحفيز سنتاز 3 –كيتو أسيل، فيتحرر CO_2 ويتشكل إنزيم 3 – كيتوأسيل (إنزيم أسيتو أسيتيل). وينتج عن ذلك تحرير زمرة -SH السيستيين، التي كانت حتى الآن مشغولة بزمرة الأسيتيل (متحدة معها). ويسمح نزع الكربوكسيل بإتمام التفاعل لأنه يعمل كقوة جاذبة لسلسلة التفاعلات بالكامل. وتطرأ على زمرة 3 – كيتو أسيل تفاعلات إرجاع ونزع ماء ثم إرجاع ثانية لتشكل إنزيم – S– أسيل مشبع موافق. ثم يتحد جزيء مالونيل -CoA الجديد مع زمرة SH من 4´ ـ فسفوبانتيثين مزيحاً بذلك ثمالة الأسيل المشبعة إلى زمرة SH الحرة في السيستين. وتتكرر سلسلة التفاعلات هذه ست مرات أخرى، حيث تنضم ثمالة مالونيل جديد في أثناء كل سلسلة تفاعلات وحتى يتشكل جذر الأسيل المشبع المؤلف من 16 ذرة كربون (البلميتيل). ثم يتحرر من المعقد الإنزيمي بتأثير فعالية الإنزيم السابع في المعقد وهو الثيوإستيراز (Thioesterase) (نازعة الأسيل Deacylase). ويجب تنشيط البلميتات الحرة لتُصبح أسيل -CoA قبل أن تدخل لأي سبيل أيضي آخر. ويكون مصيرها عادة الخضوع لتفاعل أسترة لتعطي مركبات أسيل الجليسرول (الشكل 23-4).

يوجد في غدة الثدي إنزيم ثيوإستيراز مستقل نوعي لثمالات الأسيل التي فيها عدد ذرات الكربون C_8 أو C_{10} أو C_{12} والتي ستكون فيما بعد ضمن شحميات الحليب. أما في غدة الثدي عند المجترات فإن هذا الإنزيم هو جزء من معقد سنتاز الحمض الدهني.



الشكل 23-2: معقد سنتاز الحمض الدهني متعدد الإنزيمات. هذا المعقد مثنوي من موحودين عديدي ببتيد متماثلين 1 و 2، يتكون كلاً منهما من سبع فعاليات إنزيمية والبروتين الحامل للأسيل (ACP). (Cys-SH: ثيول السيستيين) تكون زمرة – SH في 4 ج– فسفوبانتيثين لموحود واحد قريبة جداً من زمرة – SH لثمالة السيستين في سنتاز الكيتوأسيل بالموحود الأخر، مما يفترض وجود ترتيب الرأس للذيل للموحودين. وعلى الرغم من أن كل موحود يحوي كل الفعاليات الجزئية من سلسلة التفاعلات، فإن الوحدة الوظيفية الفعلية تتألف من نصف أحد المواحيد الذي يتآثر مع النصف المتمم للموحود الآخر. وبهذا الشكل يتم إنتاج سلسلتي أسيل بآن واحد. وقد وضع تسلسل الإنزيمات في كل موحود بالاعتماد على دراسات واكيل Wakil.

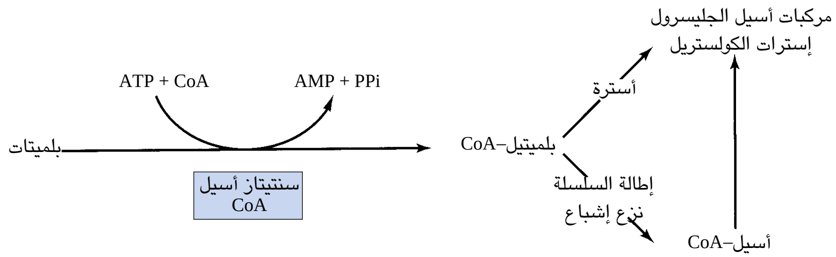


الشكل 23-3: التخليق الحيوي للأحماض الدهنية طويلة السلسلة. وقد جرى هنا تفصيل كيف إن إضافة ثمالة مالونيل تسبب نمو سلسلة الأسيل بمقدار ذرتي كربون. (-Cys: ثمالة السيستيين؛ Pan، ´4– فسفوبانتيين)، بالإضافة لتفاصيل عن سنتاز الحمض الدهني المثنوي المعروض في الشكل 23-2. تحوي الإحصارات المبينة بالأزرق الغامق الوحدة C_2 في المقام الأول والمشتقة من أسيتيل -CoA (كما هو موضح)، وبالتالي الوحدة Cn المتشكلة في التفاعل (4).

يوجد مركزان للفعالية في معقد مثنوي واحد يقومان بوظيفتهما بشكل مستقل عن الآخر ويشكلان بآن واحد جزيئين من البلميتات. وفيما يلي المعادلة الكاملة لتخليق البلميتات من أسيتيل -CoA ومالونيل -CoA:

$$CH_2CO.S.CoA + 7\ HOOC.\ CH_2\ CO.\ S.\ CoA + 14\ NADPH + 14\ H^+ \longrightarrow CH_3$$
$$(CH_2)_{14}\ COOH + 7CO_2 + 6\ H_2O + 8\ CoA.\ SH + 14\ NADP^+$$

إن الأسيتيل -CoA المستخدم كبادئ أو كمشرع (Primer)، هو الذي يشكل ذرات الكربون 15 و 16 في البلميتات. وتتم إضافة كل الوحدات ثنائية الكربون C_2 التالية عن طريق تشكيل المالونيل -CoA. الجدير ذكره هنا أن البوتيريل -CoA قد يعمل كجزيء مشرع في غدة الثدي وكبد الثدييات. وإذا عمل البروبيونيل -CoA كمشرع، فإن الناتج سيكون أحماضاً دهنية طويلة السلسلة تحوي عدداً مفرداً من ذرات الكربون. ويحدث ذلك بشكل خاص في شحوم المجترات وحليب الأبقار، حيث يتشكل البروبيونات بتأثير الجراثيم في الكرش.



الشكل 23-4: مصير البلميتات بعد التخليق الحيوي.

المصدر الرئيس لـ NADPH اللازم لتكوّن الشحم هو سبيل البنتوز فسفات:

يشترك الـ NADPH كمانح للمكافئات المرجعة في تفاعل إرجاع كل من 3 – كيتو أسيل ومشتقات الأسيل 3.2 – غير المشبعة. وتعد التفاعلات التأكسدية في سبيل فسفات البنتوز (انظر الفصل 22)، المصدر الأساسي للهيدروجين اللازم للتخليق

الإرجاعي للأحماض الدهنية. الجدير ذكره أن الأنسجة التي تختص بشكل نشيط بتكون الشحم، أي الكبد والنسيج الشحمي وغدة الثدي بالإرضاع، تمتلك أيضاً سبيل فسفات بنتوز نشيط. عدا عن ذلك، فإن كلا السبيلين الأيضين موجودان في العصارة الخلوية، لذلك فإنه لا توجد أغشية أو حواجز نفوذية لنقل NADPH من سبيل إلى آخر. أما المصادر الأخرى للـ NADPH فتضم التفاعل الذي يحول المالات إلى البيروفات بتحفيز إنزيم الماليك (Malic enzyme) نازعة هيدروجين المالات المعتمد على (NADP) (الشكل 23-5) وتفاعل نازعة هيدروجين الأيزوسيترات خارج المتقدري (قد لا يكون هذا على الأرجح مصدراً أساسياً).

إن الأسيتيل -CoA هو اللبنة الأساسية لبناء الأحماض الدهنية:

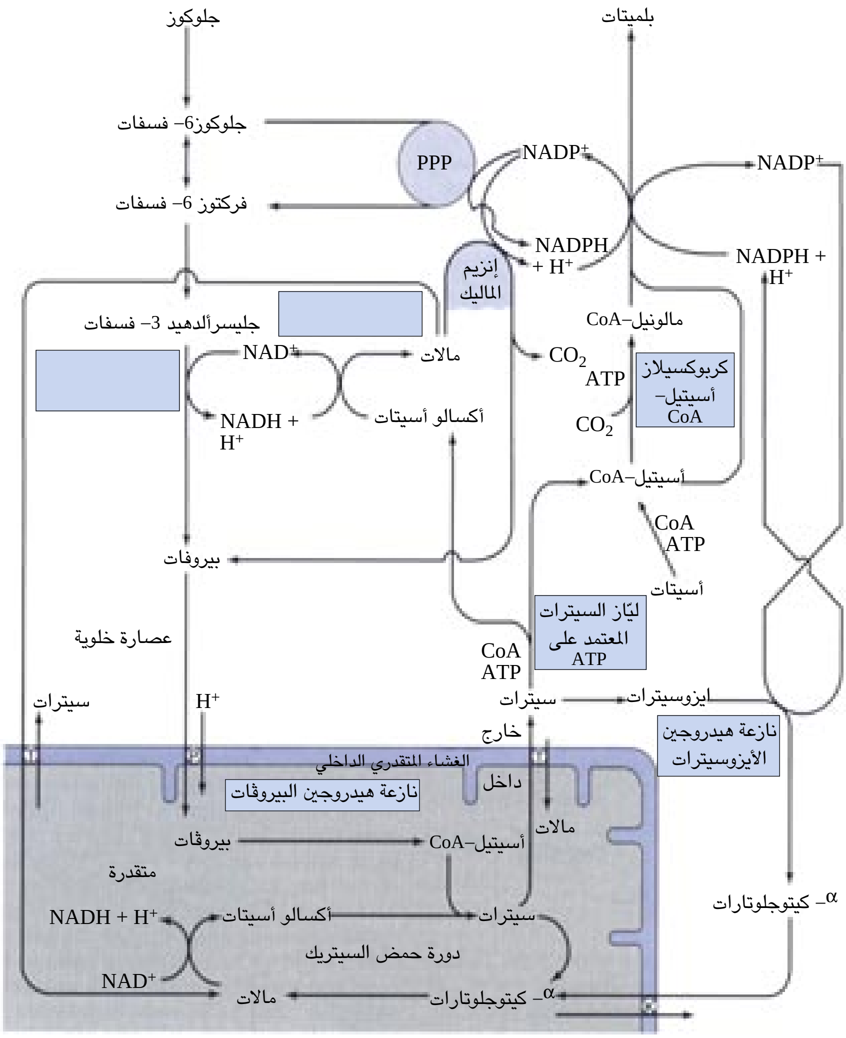
وهو يتشكل من الكربوهدرات (السكريات) عن طريق أكسدة البيروفات داخل المتقدرات. إلا أن الأسيتيل -CoA لا ينتشر بسهولة إلى العصارة الخلوية خارج المتقدرات، التي هي المقر الأساسي لتخليق الأحماض الدهنية. وعلى غرار إنزيم الماليك، تزداد فعالية إنزيم لياز السيترات ATP- (ATP-citrate lyase) خارج المتقدري في حالة التغذية الجيدة وبموازاة ذلك تزداد فعالية جملة تخليق الحمض الدهني (انظر الجدول 21-1). ويعتقد الآن أن استعمال الجلوكوز لتكون الشحم يتم عن طريق السيترات. حيث يتضمن هذا الطريق سبيل تحلل السكر المتبوع بنزع الكربوكسيل التأكسدي من البيروفات لإعطاء الأسيتيل -CoA بتفاعل يتم داخل المتقدرات، ثم يجري تفاعل تكاثف مع الأكسالوأسيتات لتتشكل السيترات، كجزء من دورة حمض الستريك. ويلي ذلك نقل السيترات إلى الحيز خارج المتقدري عن طريق ناقل الأحماض ثلاثية الكربوكسيل، حيث تخضع السيترات بوجود كل من CoA والـ ATP للانشطار إلى أسيتيل-CoA والأكسالوأسيتات بتحفيز لياز السيترات -ATP. فيتوفر عندئذ الأسيتيل -CoA لتشكيل المالونيل -CoA وتخليق البلميتات (الشكل 23-5). ويمكن للأكسالوأسيتات الناتجة أن تشكل المالات بوساطة نازعة هيدروجين المالات المرتبطة بـ NADH، ويلي ذلك توليد الـ NADPH عن طريق إنزيم الماليك. وبالتالي يصبح الـ NADPH متوافراً لتكون الشحم. ويعد هذا السبيل

وسيلة لنقل المكافئات المرجعة من NADH خارج المتقدري إلى الـ NADP. ويمكن أن تنقل المالات للمتقدرة تبادلياً، حيث تكون قادرة على إعادة تشكيل الأكسالو أسيتات، ومن الملاحظ أن ناقل السيترات (ثلاثي الكربوكسيل) الموجود في الغشاء المتقدري يحتاج للمالات ليبادلها بالسيترات (انظر الشكل 14-12).

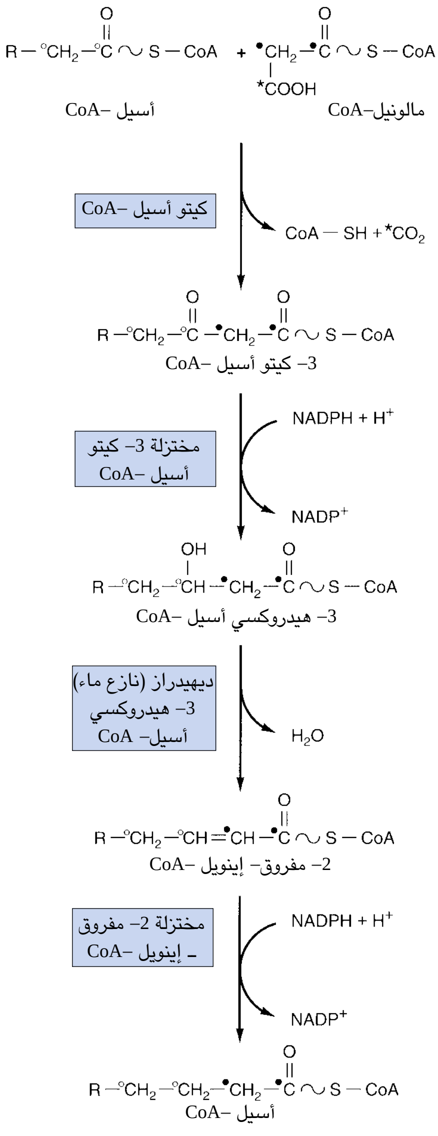
يوجد القليل من لياز السيترات -ATP أو من إنزيم الماليك عند المجترات، لأنه على الأغلب تعد الأسيتات لدى هذه الأنواع (الأسيتات المشتقة من الكرش) المصدر الرئيس لأسيتيل -CoA .وحيث أن الأسيتات تنشأ ثم يتم تنشيطها بتحويلها للأسيتيل -CoA خارج المتقدرة، فإنه ليس من الضروري نقل السيترات خارج المتقدرات قبل أن يتم انجبال الأسيتيل -CoA بالأحماض الدهنية طويلة السلسلة. والجدير ذكره هنا أن توليد الـ NADPH عن طريق نازعة هيدروجين الأيزوسيترات خارج المتقدرية هو أكثر أهمية عند هذه الأنواع بسبب عوزها لإنزيم الماليك.

تجري إطالة الحمض الدهني في الشبكة الهيولية الباطنية:

يقوم هذا السبيل (جملة الجسيمات الصغرية أو الصغرورات Microsomal) بتحويل أسيل -CoA الدهني إلى مشتق أسيل -CoA الذي يحوي ذرتي كربون أكثر، وذلك باستخدام مالونيل -CoA كمانح لجذر الأسيتيل، والـ NADPH كمرجع بتحفيز جملة من إنزيمات إطالة (Elongase) الحمض الدهني الموجودة في الجسيمات الصغرية (الشكل 23-6). وتضم زمر الأسيل، التي قد تعمل كجزيئات بادئة أو مشرعة، سلاسل مشبعة مؤلفة من عشر ذرات كربون فأكثر، وتضم كذلك أحماضاً دهنية لا مشبعة. وتتوقف عملية إطالة السلسلة بشكل كبير بتأثير الصيام وداء السكري (المعالج بالإنسولين). في حين تزداد إطالة الستياريل -Stearyl CoA) (CoA- في الدماغ بشكل سريع في أثناء تكون الميلين (Myelination) لتأمين أحماض دهنية بعدد ذرات كربون C22 و C24 والتي توجد في الشحميات السفنجولية. تكون جملة إطالة السلسلة أقل نشاطاً في المتقدرات وهي تستخدم الأسيتيل -CoA كمانح للأسيتيل، وهي ليست انعكاس للأكسدة البيتا فحسب، ذلك أنها تستخدم إنزيمات مخلفة. ويمكن القول إن وظيفتها موضع جدل وتخمين.



الشكل 23-5: تأمين أسيتيل -CoA و NADPH لسبيل تكوُّن الشحميات (PPP: سبيل البنتوزفسفات؛ T: ناقل ثلاثي الكربوكسيل؛ K: ناقل (كيتوجلوتارات –؛ P: ناقل البيروڤات).

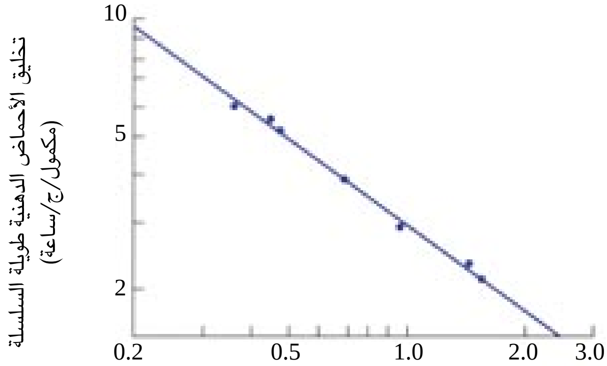


الشكل 6-23: جملة إنزيم إطالة سلسلة الحمض الدهني في الجسيمات الصغرية (الصغرورات). يستخدم الـ NADH أيضاً من قبل إنزيمات المختزلة، أما الـ NADPH فهو المفضل.

إن الحالة التغذوية تنظم تكون الشحم:

غالباً ما يكون الطور الابتنائي من التغذية متعلقاً باختزان الفائض من السكريات بشكل شحوم لاستباق فترات من نقص الطاقة كما في حالة البيات الشتوي (Hibernation) وغيرها. علاوة على ذلك، تأخذ معظم الحيوانات بما فيها الإنسان، طعامها بشكل وجبات متباعدة، لذلك يتوجب عليها اختزان الكثير من الطاقة المتوافرة في غذاءها لاستخدامها بالفترات بين الوجبات. وتتعلق عملية تكون الشحم بتحول الجلوكوز الفائض ومتوسطات أخرى مثل البيروفات واللاكتات وأسيتيل CoA- إلى الدهن، الذي يشكل الطور الابتنائي لهذه الدورة. من جانب آخر، إن الحالة الغذائية للكائن الحي هي العامل الأساسي الذي ينظم معدل تكون الشحم. وبناء عليه، يكون هذا المعدل أعلى عند الحيوان جيد التغذية، الذي يحوي غذاؤه نسبة كبيرة من السكريات. ويكبت هذا المعدل في الحالات التي يكون فيها مدخول الكالوري محدوداً، أو الغذاء غني بالدهون، أو عند وجود عوز بالإنسولين، كما في داء السكري. وتترافق جميع هذه الحالات بازدياد في تراكيز الأحماض الدهنية الحرة بالبلازما. وقد تمت مناقشة تنظيم عملية تحريك الأحماض الدهنية الحرة من النسيج الشحمي في (الفصل 27).

توجد علاقة عكسية بين تكون الشحم في الكبد وتراكيز الأحماض الدهنية الحرة في المصل (الشكل 23-7). ويحدث أكبر تثبيط لتكون الشحم عندما يكون تركيز الأحماض الدهنية الحرة أعلى من المجال (0.3-0.8 مكمول/مل بلازما)، وبسبب ذلك تزداد الأحماض الدهنية الحرة في البلازما خلال الانتقال من حالة الشبع إلى حالة الجوع. ويسبب أيضاً وجود الشحم في الغذاء كبتاً لتكون الشحم في الكبد، وعندما يكون هناك أكثر من 10٪ من الشحم في الغذاء، فإن كمية ضئيلة من السكريات الغذائية تتحول إلى شحوم. ويجري تكون الشحم بوتيرة أعلى عند تناول السكروز بدلاً من الجلوكوز، لأن الفركتوز يتجاوز نقطة التحكم التي يمارسها الفسفو فركتوكيناز في سبيل تحلل السكر فيُشبع سبيل تكوُّن الشحم (الشكل 22-5).



الشكل 23-7: التثبيط المباشر لتكون الشحميات في الكبد بوساطة الأحماض الدهنية الحرة. جرى تحديد تكون الشحميات بحسب إنجبال H_2O_3 في الأحماض الدهنية طويلة السلسلة في كبد الجرذان المُرَوَّاة. (FFA: أحماض دهنية حرة).

تنظم الآليات قصيرة وطويلة الأمد تكون الشحم:

يراقب تخليق الأحماض الدهنية طويلة السلسلة على المدى القصير عن طريق التعديل التفارغي والتساهمي (التكافؤي) للإنزيمات وعلى المدى البعيد بوساطة التغيرات التي تطرأ على التعبير الجيني الذي يتحكم في معدلات تخليق الإنزيمات.

تنظم السيترات وأسيل CoA إنزيم كربوكسيلاز أسيتيل -CoA:

إن التفاعل الأكثر أهمية في تنظيم سبيل تكون الشحم هو ذلك الواقع عند خطوة كربوكسيلاز الأسيتيل -CoA. وهو إنزيم تفارغي يتنشط بالسيترات، التي يزداد تركيزها في حالة التغذية الجيدة، كما أنه مشعر على التزويد الوافر بأسيتيل -CoA. إلا أنه يتثبط بجزيئات أسيل -CoA طويلة السلسلة، وهذا مثال على التثبيط

بالارتجاع السلبي الأيضي بتأثير الناتج عن سلسلة من التفاعلات. وبناء عليه، فإذا تراكم أسيل -CoA بسبب عدم أسترته بسرعة كافية فإنه سوف ينقص تلقائياً تخليق حمض دهني جديد. وبطريقة مماثلة، إذا تراكم أسيل -CoA كنتيجة لزيادة تحلل الشحم أو لتدفق الأحماض الدهنية الحرة إلى النسيج، فإن هذا سوف يثبط أيضاً تخليق حمض دهني جديد (الشكل 23-7). ويتضمن التنشيط التفارغي للإنزيم تجمع الأشكال أحادية وعديدة الموحودات ذات كتلة جزيئية تبلغ عدة ملايين. وقد يقوم أسيل -CoA أيضاً بتثبيط ناقل ثلاثيات الكربوكسيل المتقدري مما يؤدي إلى عدم تنشيط الإنزيم لخروج السيترات من المتقدرات إلى العصارة الخلوية.

تنظم نازعة هيدروجين البيروفات أيضاً بأسيل -CoA:

توجد أيضاً علاقة عكسية بين تركيز الأحماض الدهنية الحرة من جهة ونسبة نازعة هيدروجين البيروفات الفعالة إلى غير الفعالة من جهة ثانية، والتي تنظم توفير الأسيتيل -CoA لسبيل تكوُّن الشحم. ويسبب الأسيل -CoA تثبيط نازعة هيدروجين البيروفات عن طريق تثبيط الناقل التبادلي لـ ADP- ATP في الغشاء المتقدري الداخلي، مما يؤدي إلى ازدياد نسب [ATP] إلى [ADP] داخل المتقدرة، وبناء عليه يزداد تحول الشكل الفعال لنازعة هيدروجين البيروفات إلى الشكل غير الفعال (انظر الشكل 19-6). كما أن أكسدة أسيل -CoA بسبب ازدياد مستويات الأحماض الدهنية الحرة قد ترفع نسبة [أسيتيل -CoA] إلى [CoA] ونسبة [NADH] إلى [NAD+] في المتقدرات مما يثبط نازعة هيدروجين البيروفات.

تنظِّم الهرمونات أيضاً تكون الشحم:

ينبه الإنسولين تكون الشحم بوساطة العديد من الآليات. فهو يزيد نقل الجلوكوز لداخل الخلية (مثل النسيج الشحمي)، وبذلك فهو يزيد توافر كل من البيروفات لتخليق الأحماض الدهنية والجليسرول 3 – فسفات لأسترة الأحماض الدهنية المتشكلة حديثاً. ويحول الإنسولين الشكل غير الفعال لنازعة هيدروجين البيروفات

إلى الشكل الفعال في النسيج الشحمي وليس في الكبد. بالإضافة إلى ذلك، إن كربوكسيلاز الأسيتيل -CoA إنزيم يمكن تنظيمه بالفسفتة العكسية. لذلك فالإنسولين ينشط كربوكسيلاز الأسيتيل CoA. حيث يتضمن هذا التنشيط نزع الفسفات بوساطة الفسفاتاز البروتينية. كما أن الإنسولين، من خلال قدرته على كبت مستوى cAMP داخل الخلوي، يثبط تحلل الشحم في النسيج الشحمي، وبذلك فهو ينقص تراكيز الأحماض الدهنية الحرة في البلازما. وبناء عليه تراكيز الأسيل -CoA طويل السلسلة الذي هو مثبط لتكوُّن الشحم. وبوساطة هذه الآلية ذاتها يقوم الإنسولين بمعاكسة أفعال كل من الجلوكاجون والإبينفرين، اللذين يثبطان كربوكسيلاز أسيتيل -CoA ومن ثم تكون الشحم عن طريق زيادة cAMP مما يسمح لكيناز البروتين المعتمد على cAMP بأن يزيل نشاط الإنزيم بالفسفتة. وهناك كيناز بروتين آخر معتمد على ´AMP-5 يزيل نشاط الإنزيم أيضاً.

إن الأسيتات ــ وليس الجلوكوز ــ هي المادة التي يبدأ منها تكون الشحم عند المجترات. ويتبع ذلك أنه في هذه الأنواع يتم تجاوز العديد من آليات المراقبة بما فيها المتقدرات وبذلك فهي لا تطبق هنا.

إن كل من معقد سنتاز الحمض الدهني وكربوكسيلاز الأسيتيل -CoA إنزيمات تلاؤمية:

تتلاءم هذه الإنزيمات مع احتياجات الجسم الفيزيولوجية بأن تزداد كميتها الإجمالية في حالة الشبع وتنخفض في الصيام وعند تناول الدهون وفي داء السكري. والإنسولين هرمون مهم يطلق التعبير الجيني وتحريض التخليق الحيوي للإنزيمات، أما الجلوكاجون فهو يعاكس (عن طريق cAMP) هذا التأثير. إن تناول الدهون المحتوية أحماضاً دهنية عديدة اللا إشباع ينظم بشكل متناسق عملية تثبيط تعبير الإنزيمات الأساسية في سبيلي تحلل السكر وتكون الشحم. وتستغرق هذه الآليات التي تنظم تكون الشحم على المدى البعيد أياماً عديدة لتقوم بعملها على أكمل وجه ولتزيد التأثير المباشر والفوري في الأحماض الدهنية الحرة والهرمونات كالإنسولين والجلوكاجون.

الخلاصة:

1 – ينجز تخليق الأحماض الدهنية طويلة السلسة (تكون الشحم) بجملتين من الإنزيمات توجدان في العصارة الخلوية هما كربوكسيلاز الأسيتيل -CoA وسنتاز الحمض الدهني.

2 – يحول السبيل الأسيتيل -CoA إلى البلميتات ويلزم ذلك كل من NADPH و ATP و Mn^{2+} والبيوتين وحمض البانتوثينيك وHCO_3^- كتمائم.

3 – يلزم كربوكسيلاز أسيتيل -CoA لتحويل الأسيتيل -CoA إلى مالونيل -CoA. وبالتالي فإن سنتاز الحمض الدهني، وهو معقد عديد الإنزيمات مؤلف من سلسلة واحدة عديدة الببتيد متضمنة فعاليات سبعة إنزيمات مستقلة، يحفز تركيب البلميتات بدءا من جزيء أسيتيل -CoA واحد وسبع جزيئات مالونيل -CoA.

4 – ينظم تكون الشحم بخطوة كربوكسيلاز الأسيتيل -CoA بوساطة معدلات تفارغية وبالتعديل التكافؤي (التساهمي) وبتحريض وكبت تخليق الإنزيمات. وتنشط السيترات بدورها الإنزيم، أما أسيل -CoA طويل السلسلة فيثبط فاعليته. ينشط الإنسولين كربوكسيلاز أسيتيل -CoA على المدى القصير بنزع الفسفات وعلى المدى البعيد بتحريض التخليق. في حين أن لكل من الجلوكاجون والإبينفرين تأثيرات معاكسة للإنسولين.

5 – تجري إطالة الأحماض الدهنية طويلة السلسلة في الشبكة الهيولية الباطنية بتحفيز جملة من إنزيمات الإطالة في الجسيمات الصغرية.

***References:**

Haystead TAJ et al: Roles of the AMP-activated and cyclic-AMP-dependent protein kineses in the adrenaline-induced inactivation of acetyl- CoA carboxylase in ret adipocytes. *EurJ Biochem* 1990;187:199.

Hudgins LC et al: Human fatty acid synthesis is stimulated by a eucaloric low fat, high carbohydrate diet. J Clin Invest 1996;97:2081.

Jump DB et al: Coordinate regulation of glycolytic and lipogenic gene expression by polyunsaturated fatty acids. *J Lipid Res* 1994;35:1076.

Mabrouk GM et al: Acute hormonal control of acetyl-CoA carboxylase. *J Biol Chem* 1990;265:6330.

Salati LM, Goodridge AG: Fatty acid synthesis in eukaryotes. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes.* Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 1996.

Wakil SJ: Fatty acid synthase, a proficient multifunctional enzyme. *Biochemistry* 1989;28:4523.

الفصل الرابع والعشرون

أكسدة الأحماض الدهنية:

تكون الكيتون

Oxidation of Fatty Acids: Ketogensis

مقدمة:

تؤكسد الأحماض الدهنية إلى أسيتيل -CoA ويتم تخليقها منه أيضاً. ومع أن المادة التي تبدأ منها عملية واحدة تكون مطابقة لناتج العملية الأخرى، وأن المراحل الكيميائية المشاركة تكون متشابهة، فإن أكسدة الأحماض الدهنية ليست مجرد انعكاس بسيط لعملية التخليق الحيوي للأحماض الدهنية، بل إنها عملية مختلفة كلياً تجري في حيز منفصل من الخلية. وإن فصل أكسدة الأحماض الدهنية عن تخليقها حيوياً يسمح بمراقبة كل عملية على حدة وبأن تتكاملا وفقاً لاحتياجات النسيج.

تجري أكسدة الأحماض الدهنية في المتقدرات، وتتضمن كل خطوة مشتقات أسيل -CoA بتحفيز إنزيمات مستقلة تستعمل NAD^+ و FAD كتمائم إنزيمية، وهي تولد الـ ATP. وبالمقابل، يجري التخليق الحيوي للأحماض الدهنية (تكون الشحم) في العصارة الخلوية وهو يتضمن مشتقات الأسيل التي ترتبط بشكل متواصل بالمعقد عديد الإنزيمات الذي يستخدم $NADP^+$ كتميم إنزيمي ويتطلب توافر كل من الـ ATP وأيون البيكربونات. كما أن أكسدة الأحماض الدهنية عملية هوائية تتطلب وجود الأكسجين.

الأهمية الطبية البيولوجية:

إن ازدياد أكسدة الأحماض الدهنية صفة مميزة لحالة الجوع والداء السكري، حيث يؤدي ذلك إلى إنتاج الجسم الكيتوني (Ketone body) في الكبد (فرط كيتون الجسم؛ الخلال Ketosis). والأجسام الكيتونية ذات طبيعة حمضية وعند إنتاجها بكميات مفرطة ولفترة طويلة من الزمن، كما في الداء السكري، فإنها تسبب حماضاً كيتونياً (Ketoacidosis)، الذي يكون مميتاً في النهاية. وحيث أن استحداث السكر سبيل معتمد على أكسدة الأحماض الدهنية، فإن أي خلل في أكسدة الأحماض الدهنية سيؤدي إلى نقص سكر الدم. ويحدث ذلك في حالات متنوعة كعوز الكارنيتين (Carnitine deficiency) أو عوز الإنزيمات الأساسية في سبيل أكسدة الأحماض الدهنية، مثل ناقلة بلميتويل الكارنيتين (Carnitine palmitoyl transferase)، أو تثبيط أكسدة الأحماض الدهنية بالسموم كما في الهيبوجليسين (Hypoglycin).

تجري أكسدة الأحماض الدهنية في المتقدرات:

تنقل الأحماض الدهنية في الدم كأحماض دهنية حرة (FFA):

ينطبق مصطلح الحمض الدهني الحر على الأحماض الدهنية التي تكون بحالة غير مؤسترة (Unesterified) والتسمية البديلة هي UFA (أحماض دهنية لا مؤسترة) أو NEFA (أحماض دهنية غير مؤسترة). وتكون الـ FFA التي فيها أحماض دهنية بسلاسل أطول، مُتحدة مع الألبومين في البلازما، أما في الخلايا فهي تكون مرتبطة بالبروتين الرابط للحمض الدهني، بحيث أنها في الواقع لا تكون بالحالة الحرة مطلقاً. أما الأحماض الدهنية ذات السلاسل الأقصر فهي أكثر ذوباناً في الماء وتوجد كحمض غير متشرد أو كصاعدة (كائنيون) الحمض الدهني.

يتم تنشيط الأحماض الدهنية قبل البدء بتقويضها:

على غرار ما يحدث في أيض الجلوكوز، يجب أن تخضع الأحماض الدهنية أولاً

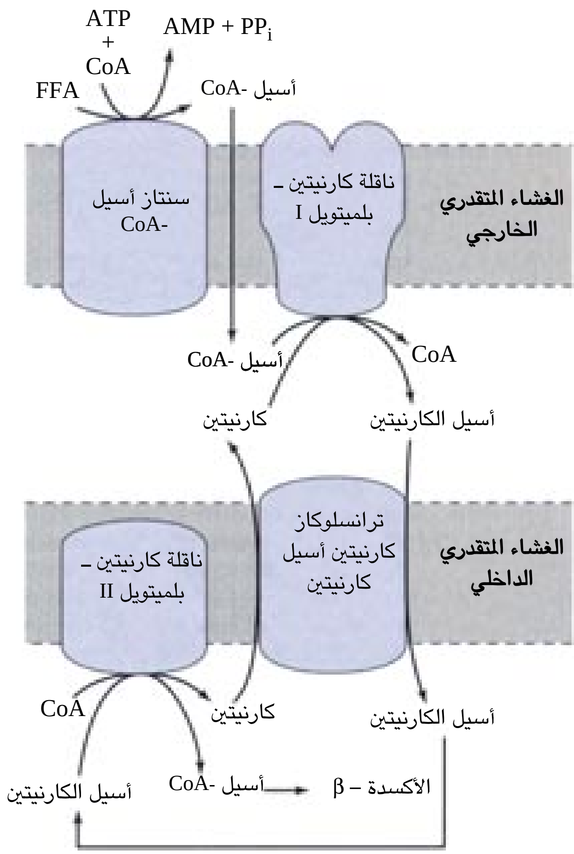
للتفاعل مع الـ ATP لكي تتحول إلى حالة متوسطة نشيطة قبل أن تتفاعل مع الإنزيمات المسؤولة عن أيضها اللاحق. وهذه هي الخطوة الوحيدة في كامل سبيل تدرك الأحماض الدهنية التي تتطلب الطاقة من الـ ATP. ثم بوجود الـ ATP وتميم الإنزيم A، يحفز إنزيم سنثيتاز أسيل -CoA (الثيوكيناز) تحول الحمض الدهني (أو الحمض الدهني الحر) إلى حمض دهني نشيط (فعال) أو لأسيل -CoA، ويترافق ذلك مع إنفاق فسفات واحدة عالية الطاقة.

حمض دهني + ATP + CoA ——(سنثيتاز أسيل CoA)——> أسيل -CoA + PP_i + AMP

ويضمن وجود إنزيم البيروفسفاتاز اللاعضوي أن يجري التنشيط بشكل تام بتسهيل صرف فسفات إضافية عالية الطاقة تكون مرتبطة بالبيروفسفات. وبذلك يجري فعلياً إنفاق إثنتين من الفسفات عالية الطاقة في أثناء تنشيط كل جزيء حمض دهني.

$PP_i + H_2O$ ——(البيروفسفاتاز اللاعضوي)——> $2\ P_i$

توجد إنزيمات سنثيتاز أسيل -CoA في الشبكة الهيولية الباطنية والجسيمات البيروكسية وعلى خارج غشاء المتقدرة وداخله (الشكل 24-1). وقد تم وصف العديد من إنزيمات سنتاز أسيل -CoA، كل منها نوعي للأحماض الدهنية حسب الاختلاف بطول سلاسلها.



الشكل 24-1 : دور الكارنيتين في نقل الأحماض الدهنية طويلة السلسلة عبر الغشاء المتقدري الداخلي. لا يستطيع أسيل -CoA طويل السلسلة المرور خلال الغشاء المتقدري الداخلي، لكن بالمقابل يستطيع ناتجه الأيضي أسيل الكارنيتين ذلك.

تخترق الأحماض الدهنية طويلة السلسلة الغشاء المتقدري الداخلي بشكل مشتقات الكارنيتين:

ينتشر الكارنيتين (β– هيدروكسي – γ– ثلاثي ميثيل أمونيوم بوتيرات) $(CH_3)_3N^+ - CH_2 - CH(OH) - CH_2 - COO^-$، بشكل واسع ويسود في العضلات بشكل خاص. ويتم تخليقه من الليسين والميثيونين في الكبد والكلية. ومن الممكن أن يجري تنشيط الأحماض الدهنية الدنيا وأكسدتها في المتقدرات بشكل مستقل عن الكارنيتين، أما أسيل -CoA طويل السلسلة (أو FFA) فإنه لا يخترق الغشاء الداخلي للمتقدرات ولن يؤكسد ما لم يصبح على شكل أسيل الكارنيتين.

وهناك إنزيم، هو ناقلة بلميتويل الكارنيتين I، موجود في الغشاء المتقدري الخارجي، وهو يحول أسيل -CoA طويل السلسلة إلى أسيل الكارنيتين، الذي يكون قادراً على اختراق الغشاء الداخلي للمتقدرات والالتحاق بجملة إنزيمات الأكسدة البتائية. ويعمل ترانس لوكاز الكارنيتين ـ أسيل الكارنيتين كناقل تبادلي للكارنيتين في الغشاء الداخلي. حيث ينقل أسيل الكارنيتين للداخل، بالتوازي مع نقل جزيء واحد من الكارنيتين للخارج. ثم يتفاعل أسيل الكارنيتين مع CoA بتحفيز ناقلة بلميتويل الكارنيتين II، المتوضعة على الجانب الداخلي للغشاء الداخلي. ثم يعاد تشكيل أسيل -CoA في المطرس المتقدري وعندئذ يتحرر الكارنيتين (الشكل 24-1).

وهناك إنزيم آخر، هو ناقلة أسيتيل الكارنيتين (Carnitine acetyl transferase)، الذي يوجد في المتقدرات ويحفز نقل زمر الأسيل قصيرة السلسلة بين CoA والكارنيتين.

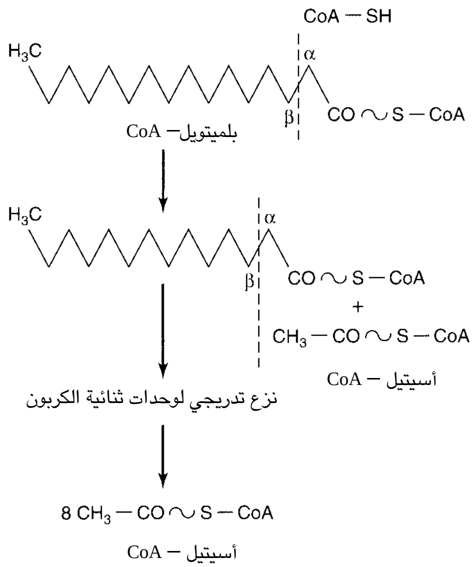
وما تزال وظيفة هذا الإنزيم غير واضحة، لكنه قد يسهل نقل زمر الأسيتيل خلال الغشاء المتقدري. وإلى جانب الفركتوز واللاكتات، فإن أسيتيل الكارنيتين مصدر مهم للوقود من أجل تأمين حركة النطاف (الحيوان المنوي).

ناقلة أسيتيل الكارنيتين

CoA + أسيتيل الكارنيتين ⟷ كارنيتين + أسيتيل -CoA

تتضمن الأكسدة البتائية للأحماض الدهنية تفاعلات انشطار متعاقبة مع تحرير أسيتيل -CoA:

يتم في الأكسدة البتائية (الشكل 24-2) انشطار ذرتي كربون في كل مرة من جزيئات أسيل -CoA بدءاً من النهاية الكربوكسيلية. وتتحطم السلسلة بين ذرتي الكربون α (2) و β (3)، ومن هنا جاءت التسمية: الأكسدة البتائية. وتكون الوحدات ثنائية الكربون المتشكلة هي الأسيتيل -CoA؛ وبذلك فإن البلميتويل -CoA يتشكل من ثماني جزيئات من الأسيتيل -CoA.



الشكل 24-2 : المخطط العام للأكسدة β – للأحماض الدهنية.

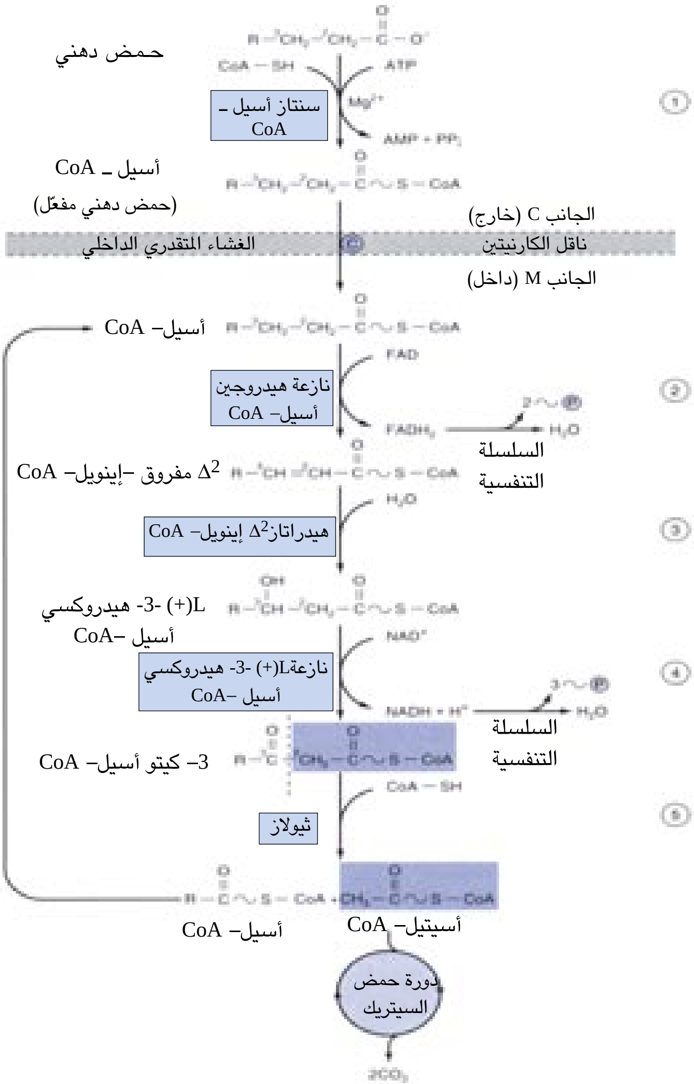
تولد سلسلة التفاعلات الدورية كل من $FADH_2$ و NADH:

توجد عدة إنزيمات تعرف إجمالاً بأكسيداز الأحماض الدهنية في المطرس المتقدري أو في الغشاء المتقدري الداخلي إلى جوار السلسلة التنفسية في الغشاء

الداخلي أيضاً. وهي تحفز أكسدة أسيل -CoA إلى أسيتيل -CoA، وتكون هذه الجملة مقترنة مع فسفتة الـ ADP إلى ATP (الشكل 24-3).

بعد نفوذ الجزء الأسيلي خلال الغشاء المتقدري، عن طريق الجملة الناقلة للكارنيتين وإعادة تشكيل أسيل -CoA، يتم نزع ذرتي هيدروجين من ذرتي الكربون α (2) و β (3) بتحفيز نازعة هيدروجين أسيل -CoA.

ويؤدي هذا إلى تشكيل Δ^2 ـ ترانس ـ إينول ـ CoA. حيث يكون التميم الإنزيمي لنازعة الهيدروجين هذه هو الفلاڤوبروتين الحاوي FAD كزمرة ضميمة، والذي تتطلب إعادة أكسدته بالسلسلة التنفسية تواسط فلاڤوبروتين آخر يسمى الفلاڤوبروتين الناقل للإلكترون (Electron- transferring flavoprotein) (الفصل 13). ويضاف الماء لإشباع الرابطة المضاعفة فيتشكل 3– هيدروكسي أسيل -CoA، بتحفيز إنزيم هدراتاز Δ^2 ـ إينويل ـ CoA (Δ^2 enoyl - CoA - hydratase) ويخضع المشتق 3– هيدروكسي لنزع هيدروجين إضافي عند الكربون 3– بتحفيز نازعة هيدروجين -3- (+) L هيدروكسي أسيل -CoA ليتشكل مركب 3– كيتو – أسيل -CoA موافق. ويكون الـ NAD، في هذه الحالة، هو التميم الإنزيمي المشترك في تفاعل نزع الهيدروجين. ويجري في النهاية انشطار 3 – كيتو –أسيل –CoA بالموقع بين الذرتين 3،2 بوساطة الثيولاز (Thiolase) (ثيولاز 3– كيتو ـ أسيل -CoA)، التي يحفز انشطار الزمرة الثيولية بمشاركة جزيء أخر من CoA. وينتج عن هذا التفاعل كل من الأسيتيل -CoA ومشتق أسيل -CoA الذي يحوي ذرتي كربون أقل من جزيء أسيل -CoA الأصلي والذي كان قد خضع للأكسدة. ويعود أسيل -CoA المتشكل عن تفاعل التشطير للدخول ثانية في السبيل التأكسدي عند التفاعل 2 (الشكل 24-3). وقد يجري في هذا الطريق، تدرك الحمض الدهني طويل السلسلة بشكل كامل إلى أسيتيل -CoA (وحدات ثنائية الكربون). وحيث أن الأسيتيل -CoA يمكن أن يتأكسد إلى CO_2 وماء في دورة حمض السيتريك (التي توجد أيضاً في المتقدرات)، فإن الأكسدة التامة للأحماض الدهنية تكون قد أنجزت. يوجد في المتقدرات أكثر من إنزيم واحد من كل من الإنزيمات المذكورة أعلاه يكون كل منها نوعياً لسلاسل الأسيل ذات الأطوال المختلفة.



الشكل 24-3 : الأكسدة β للأحماض الدهنية. يدور أسيل -CoA طويل السلسلة خلال التفاعلات 2-5، ويتحرر أسيتيل -CoA في كل دورة، بوساطة الثيولاز (التفاعل 5). وعندما يصبح طول جذر الأسيل أربع ذرات كربون فقط، فإنه يتشكل جزيئان من أسيتيل -CoA في التفاعل 5.

تعطي أكسدة الحمض الدهني ذي العدد المفرد من ذرات الكربون الأسيتيل -CoA مع جزيء بروبيونيل -CoA:

تتأكسد الأحماض الدهنية الحاوية عدداً فردياً من ذرات الكربون بسبيل الأكسدة البتائية، وهي تظل تنتج الأسيتيل -CoA حتى يتبقى ثمالة واحدة من ثلاث ذرات كربون هي البروبيونيل -CoA ويتحول هذا المركب إلى السكسينيل -CoA الذي هو مكون في دورة حمض السيتريك (الشكل 21-2). ويمكن القول بناء عليه، إن ثمالة البروبيونيل من الحمض الدهني ذي السلسلة المفردة هو الجزء الوحيد من الحمض الدهني الذي يعود جزئياً للسكر.

ينتج عن أكسدة الأحماض الدهنية كمية كبيرة من ATP:

يؤدي نقل الإلكترونات في السلسلة التنفسية من FADH2 و NADH إلى تخليق خمس زمر فسفاتية عالية الطاقة (الفصل 14) لكل واحد من جزيئات الأسيتيل -CoA السبع الأولى المتشكلة عن الأكسدة البتائية للبلميتات (7 × 5 = 35). ويتشكل بشكل إجمالي 8 جزئيات من الأسيتيل -CoA، وستعطي كل منها 12 جزئى من الـ ATP عند أكسدتها في دورة حمض السيتريك، فيكون الإجمالي 8 × 12 =96 جزيئا من الـ ATP مشتقة من الأسيتيل -CoA المتشكل من البلميتات. ويجب طرح اثنين منها من أجل تنشيط الحمض الدهني في البداية، فيعطي بشكل صاف 129 جزئى من الـ ATP لكل جزئى من البلميتات، أو 129 × 51.6* = 6656 كيلو جول. وبما أن الطاقة الحرة لاحتراق حمض البلميتيك تساوي 9791 كيلو جول/جزئى، فإن العملية تقتنص نحو 68 ٪ من إجمالي الطاقة الناتجة عن احتراق الحمض الدهني وذلك على شكل فسفات عالية الطاقة.

تؤكسد الجسيمات البيروكسية الأحماض الدهنية ذات السلاسل الطويلة جداً:

يوجد في الجسيمات الصغرية شكلاً معدلاً من الأكسدة البتائية، وهو يؤدي إلى

* *ΔG بالنسبة لتفاعل الـ ATP، كما هو موضح في الفصل 19.*

تشكيل الأسيتيل -CoA و H_2O_2 من خطوة نازعة الهيدروجين المرتبطة بالفلافوبروتين)، الذي يتم تحطيمه بوساطة الكاتالاز. لذلك فإن تفاعل نزع الهيدروجين هذا الذي يحدث في الجسيمات البيروكسية يكون غير مرتبط بشكل مباشر بالفسفتة وبتوليد الـ ATP. وتكون الجملة متعلقة بالتنشيط الأولي بوساطة سنتاز أسيل -CoA ذي السلسلة الطويلة جداً وهي تسهل أكسدة الأحماض الدهنية ذات السلاسل الطويلة جداً (أي C_{20} و C_{22}). وتتحرض هذه الإنزيمات بالأطعمة الغنية بالشحوم، وفي بعض الأنواع بالأدوية الخافضة لشحوم الدم مثل الكلوفيبرات.

ولا تقوم إنزيمات الجسيمات البيروكسية بمهاجمة الأحماض الدهنية ذات السلاسل الأقصر؛ وبالمقابل تنتهي سلسلة تفاعلات الأكسدة البتائية عند إنتاج المركب أكتانويل -CoA. وتتم فيما بعد إزالة زمر الأكتانويل والأسيتيل من الجسيمات البيروكسية على شكل أكتانويل كارنيتين وأسيتيل كارنيتين، اللذين يخضعان فيما بعد للأكسدة في المتقدرات. وتقوم الأكسدة البتائية الجارية في الجسيمات البيروكسية بدور إضافي هو تقصير السلسلة الجانبية للكوليسترول عند تشكيل الأحماض الصفراوية (الفصل 28). كما تشارك الجسيمات البيروكسية في تخليق إيثر الشحميات الجليسرولية (الفصل 26) والكوليسترول والدوليكول (الشكل 28-2). وتجدر الإشارة هنا إلى أن الجسيمات البيروكسية لا تحوي إنزيم ناقلة بلميتويل الكارنيتين.

إن الأكسدة – α و– ω للأحماض الدهنية هي سبل متخصصة:

إن الأكسدة البتائية في المتقدرات هي من الناحية الكمية السبيل الأكثر أهمية لأكسدة الأحماض الدهنية. لكن تبين أن الأكسدة – α (ألفا)، أي نزع ذرة كربون واحدة في كل مرة من النهاية الكربوكسيلية للجزيء، تجري في النسيج المخي. ولا تحتاج هذه الأكسدة لمتوسطات الـ CoA ولا تولد زمراً فسفاتية عالية الطاقة. أما الأكسدة – ω فهي في الحالة السوية سبيل ثانوي جداً يجري بوساطة إنزيمات الهيدروكسيلز بما فيها السيتوكروم P450 في الشبكة الهيولية الباطنية (الفصل

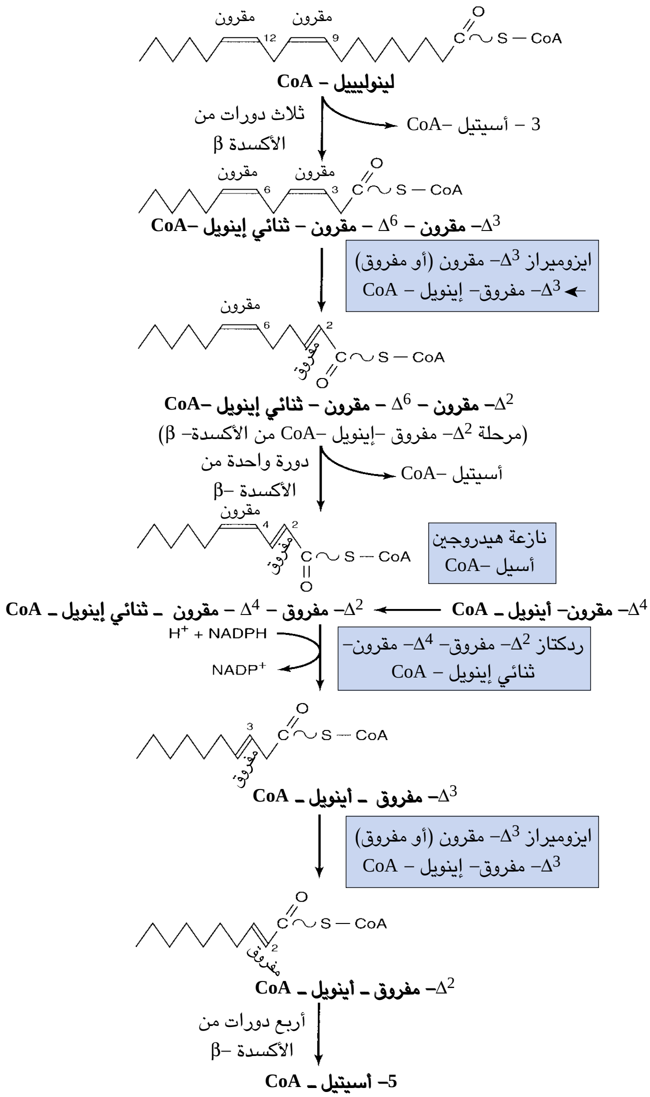
13). حيث تتحول هنا الزمرة الميثيلية – (CH_3) إلى الزمرة (CH_3OH^-) التي تتأكسد بعد ذلك إلى ($COOH^-$)، فيتشكل بذلك حمض ثنائي الكربوكسيل. ويتأكسد هذا عادة بالأكسدة البتائية إلى حمضي الأديبيك (C_6)والسوبيريك (C_8) اللذين يطرحان في البول.

تؤكسد الأحماض الدهنية اللا مشبعة في سبيل أكسدة بتائية مُعَدَّل:

تتدرك أسترات الـ CoA لهذه الأحماض بإنزيمات تكون في الحالة السوية مسؤولة عن الأكسدة البتائية ويستمر هذا التدرك إلى حين تشكيل إما المركب Δ^4 ـ مقرون ـ أسيل ـ CoA أو إما المركب Δ^4 ـ مقرون ـ أسيل -CoA، وذلك بحسب موقع الروابط المضاعفة (الشكل 24-4). ويطرأ على المركب الأول تفاعل مصاوغة (بوساطة إيزوميراز Δ^3 ـ مقرون ← Δ^2 ـ مفروق ـ إينويل CoA) إلى مرحلة (2 ـ مفروق -CoA الموافقة من الأكسدة البتائية، ثم يتعرض الناتج لتفاعلي إماهة وأكسدة. ثم يخضع أي مركب Δ^4 ـ مقرون ـ أسيل -CoA سواء بقي، كما في حالة حمض اللينولييك (الشكل 24-4)، أو دخل السبيل عند هذه النقطة، إلى التحول إلى Δ^2 ـ مفروق ـ Δ^4 ـ مقرون ـ ثنائي إينويل -CoA بوساطة نازعة هيدروجين أسيل -CoA. ثم يتحول هذا إلى Δ^3 ـ مفروق ـ إينويل -CoA بإنزيم معتمد على NADP مختزلة Δ^4 ـ مفروق ـ Δ^4 مقرون ـ ثنائي إينويل ـ CoA. ويقوم إنزيم إيزوميراز Δ^3 ـ مقرون (أو مفروق) ← Δ^2 ـ مفروق ـ إينويل -CoA بمهاجمة الرابطة المضاعفة Δ^3 ـ مفروق لإعطاء Δ^2 ـ مفروق ـ إينويل -CoA، وهو مركب متوسط في سبيل الأكسدة البتائية.

يجري تكون الكيتون عندما يحدث معدل عال من الأكسدة للأحماض الدهنية في الكبد:

يقوم الكبد، في شروط أيضية معينة مترافقة مع معدل عال من أكسدة الأحماض



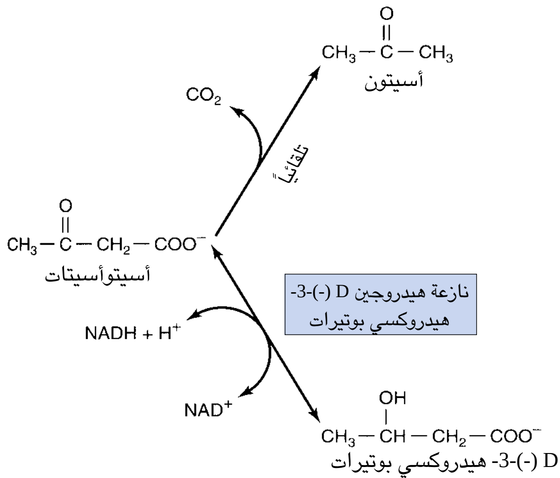
الشكل 24-4 : تسلسل التفاعلات في أكسدة الأحماض الدهنية اللامشبعة، مثل حمض اللينولييك. تدخل الأحماض الدهنية Δ^4– مقرون أو الأحماض الدهنية المشكلة لـ Δ^4 مقرون ـ إينويل -CoA إلى السبيل عند المواقع المبينة في الشكل. يؤمن الـ NADPH اللازم لخطوة مختزلة ثنائي إينويل -CoA من مصادر داخل المتقدرة مثل نازعة هيدروجين الجلوتامات ونازعة هيدروجين الأيزوسيترات وناقلة هيدروجين NAD (P) H.

الدهنية، بإنتاج كميات كبيرة من الأسيتو أسيتات و -3- (-) D هيدروكسي بوتيرات (β – هيدروكسي بوتيرات). وتخضع الأسيتو أسيتات بشكل متواصل إلى تفاعل نزع كربوكسيل تلقائي لتعطي الأسيتون (Acetone) وتعرف هذه المركبات الثلاث إجمالاً بالأجسام الكيتونية (Ketone bodies) وتسمى أيضاً بالأجسام الخلونية أو [بشكل غير صحيح]* بالكيتونات) (الشكل 24-5). ويتحول كل من الأسيتو أسيتات و 3– هيدروكسي بوتيرات بينياً بوساطة إنزيم متقدري هو نازعة هيدروجين D(-) -3- هيدروكسي بوتيرات، وتتم مراقبة التوازن بينهما بنسبة [NAD+] إلى [NADH] في المتقدرات، أي بحالة الخزلدة. وتتراوح نسبة (3– هيدروكسي بوتيرات) إلى (الأسيتو أسيتات) في الدم بين 1 : 1 و 10 : 1. ولا يتجاوز في الحالة السوية تركيز إجمالي الأجسام الكيتونية في دم الثدييات جيدة التغذية 0.2 مجزئى/ ل. ويكون هذا التركيز أعلى بعض الشيء عند المجترات بسبب تشكيل 3 – هيدروكسي بوتيرات من حمض البوتيريك (الناتج عن التخمر في الكرش) وذلك في جدار الكرش. وتكون الخسارة عن طريق البول أقل عادة من 1 مج/ في بول 24 ساعة عند الإنسان.

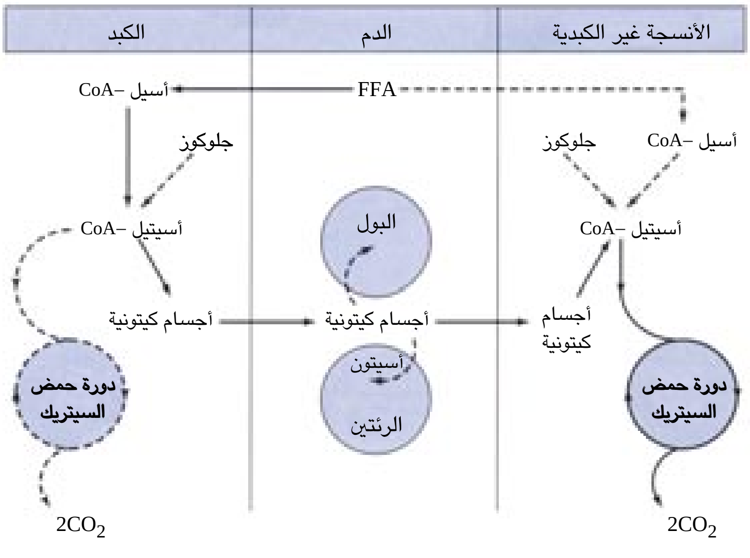
ويبدو أن الكبد في الحي، هو العضو الوحيد الذي يعطي كميات مهمة من الأجسام الكيتونية إلى الدم عند غير المجترات. حيث تستطيع الأنسجة خارج الكبد استعمالها كركائز تنفسية. ولا تسهم مصادر الأجسام الكيتونية خارج الكبد، مثل ظهارة الكرش عند المجترات بحال الشبع، في حدوث الخُلال بشكل كبير عند هذه الأنواع.

ينتج التدفق الصافي للأجسام الكيتونية من الكبد إلى الأنسجة خارج الكبد بفضل آلية إنزيمية كبد نشيطة تعمل على إنتاج الأجسام الكيتونية بالاقتران مع انخفاض كبير بفعالية الإنزيمات المسؤولة عن استعمالها. في حين يحدث عكس ذلك في الأنسجة خارج الكبد (الشكل 24-6).

** يجب عدم استخدام مصطلح «الكيتونات Ketones» لأن 3- هيدروكسي بيوتيرات ليس كيتوناً، كما أن هناك كيتونات في الدم ليست أجساماً كيتونية، مثل البيروفات والفركتوز.*



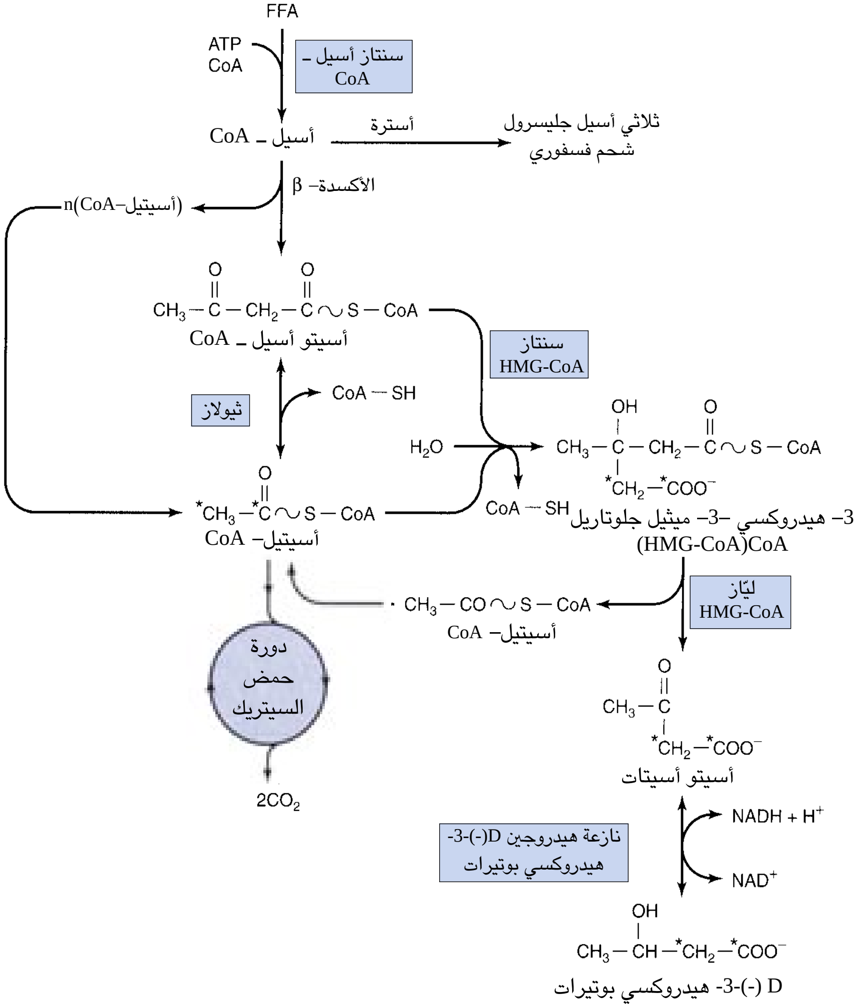
الشكل 24-5 : العلاقات المتبادلة بين الأجسام الكيتونية. إن نازعة هيدروجين D (-) -3- هيدروكسي بوتيرات هو إنزيم متقدري.



الشكل 24-6 : تشكيل الأجسام الكيتونية واستعمالها وإفراغها. (جرت الإشارة إلى السبيل الرئيسي بأسهم عادية داكنة)

إن 3– هيدروكسي –3– ميثيل جلوتاريل CoA- (HMG-CoA) مركب متوسط في سبيل تكون الكيتون:

توجد الإنزيمات المسؤولة عن تشكيل الأجسام الكيتونية في المتقدرات بشكل رئيسي. وكان يعتقد في السابق أن جزيء واحد فقط من الأسيتو أسيتات تتشكل من ذرات الكربون الأربعة الطرفية من الحمض الدهني بتأثير الأكسدة. وتم فيما بعد وضع اقتراح لتفسير كل من: كيفية إنتاج أكثر من مكافئ واحد من الأسيتو أسيتات من الحمض الدهني طويل السلسلة وتشكيل الأجسام الكيتونية من حمض الأسيتيك، وينص الاقتراح أن الوحدات ثنائية الكربون المتشكلة من الأكسدة البتائية تتكاثف مع واحدة أخرى لتشكيل الأسيتو أسيتات. وقد يحدث ذلك بانعكاس تفاعل الثيولاز الذي يتم بوساطته تكاثف جزيئين من الأسيتيل CoA- لتشكيل أسيتو أسيتيل CoA-. وبهذا الشكل ينشأ الأسيتو أسيتيل CoA-، وهي المادة التي يبدأ منها سبيل تكون الكيتون، إما بشكل مباشر في مجرى الأكسدة البتائية، أو كنتيجة لتكاثف الأسيتيل CoA- (الشكل 24-7). ويتضمن السبيل تكاثف الأسيتو أسيتيل CoA- مع جزيء أخر من الأسيتيل CoA- لتشكيل HMG-CoA بتحفيز سنتاز 3 – هيدروكسي –3– ميثيل جلوتاريل CoA-. ويؤدي وجود إنزيم آخر في المتقدرات هو لياز 3 – هيدروكسي –3– ميثيل جلوتاريل CoA- إلى اقتطاع جزيء أسيتيل CoA- من HMG-CoA، ويبقى جزيء أسيتو أسيتات حر. وتشتق ذرات الكربون المقتطعة كجزيء أسيتيل CoA- من جزيء الأسيتو أسيتيل CoA- الأصلي (الشكل 24-7). وينبغي تواجد كلا الإنزيمين في المتقدرات لكي يحدث تكون الكيتون. وتجري هذه الأحداث في كل من الكبد وظهارة الكرش فحسب. ومع أنه تزداد فعالية لياز HMG-CoA في الصيام، لكن لا تتوافر أية أدلة على أن هذا الإنزيم هو الذي يحدد معدل عملية تكون الكيتون. تكون الأسيتو أسيتات في توازن مع D (-) - 3- هيدروكسي بوتيرات بتحفيز نازعة هيدروجين D (-) - 3- هيدروكسي بوتيرات، الذي يوجد في متقدرات العديد من الأنسجة، بما فيها الكبد (الشكل 24-5). علماً أن D (-) - 3- هيدروكسي بوتيرات هو الجسم الكيتوني السائد كمياً الموجود في الدم والبول في حالة فرط كيتون الجسم.



الشكل 7-24 : سبل تكون لكيتون في الكبد (FFA : أحماض دهنية حرة؛ HMG : 3- هيدروكسي -3- ميثيل جلوتاريل).

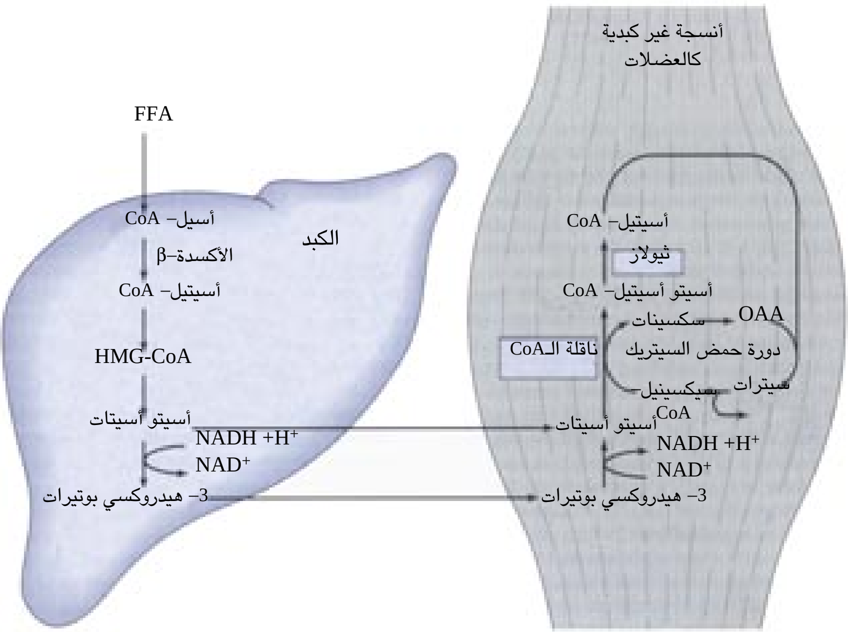
تنفع الأجسام الكيتونية كوقود في الأنسجة خارج الكبد:

مع أن الكبد مجهز بآلية إنزيمية نشيطة لإنتاج الأسيتو أسيتات بدءاً من أسيتو أسيتيل -CoA، فما إن تتشكل الأسيتو أسيتات حتى لا يمكن إعادة تنشيطها مباشرة في الكبد فيما عدا العصارة الخلوية، حيث تعد طليعة في سبيل تخليق الكوليسترول وهو سبيل أقل نشاطاً بكثير من السابق. ويكون ذلك مسؤولاً عن الإنتاج الصافي للأجسام الكيتونية في الكبد.

يتضمن السبيل الرئيسي لاستعمال الأسيتو أسيتات في الأنسجة خارج الكبد وتنيطها إلى أسيتو أسيتيل -CoA كل من سكسينيل -CoA وإنزيم ناقلة سكسينيل -CoA أسيتو أسيتات. حيث تتفاعل الأسيتو أسيتات مع السكسينيل -CoA، ويتم انتقال الـ CoA ليتشكل الأسيتو أسيتيل -CoA ويبقى جزيء سكسينات حر (الشكل 24-8). ثم ينشطر الأسيتو أسيتيل -CoA المتشكل بهذا التفاعل إلى أسيتيل -CoA بوساطة الثيولاز الذي يتأكسد في دورة حمض السيتريك كما هو مبين في (الشكل 24-8). وتتأكسد الأجسام الكيتونية في الأنسجة خارج الكبد بشكل متناسب مع تركيزها في الدم. فإذا كان مستواها مرتفعاً في الدم، فإن أكسدة الأجسام الكيتونية تزداد حتى الوصول لتركيز 21 جزيئي/ل تقريباً، حيث تُشبَع الآلية التأكسدية. وعندما يحدث ذلك، فإنه يمكن تفسير استهلاك نسبة كبيرة من الأكسجين بأكسدة الأجسام الكيتونية.

تشير معظم الدلائل إلى أن وجود الكيتون في الدم (Ketonemia) ينتج عن زيادة إنتاج الأجسام الكيتونية في الكبد وليس عن قصور في استعمالها بالأنسجة خارج الكبد. إلا أن نتائج التجارب التي أجريت على الجرذان، التي استئصل منها البنكرياس، تدعم إمكانية أنه قد يزداد فرط كيتون الجسم شدة في الداء السكري الشديد بسبب تناقص القدرة على تقويض الأجسام الكيتونية. وعلى الرغم من أن الأسيتو أسيتات و -3- (-) D هيدروكسي بوتيرات يتأكسدان فوراً في الأنسجة خارج الكبد، إلا أنه من الصعب أكسدة الأسيتون في الجسم لذلك يتطاير بدرجة كبيرة في الرئتين.

تشكل خسارة الأجسام الكيتونية في حال وجود الكيتون في الدم المعتدل عن طريق البول نسبة مئوية ضئيلة فقط من إجمالي ما ينتج وما يستعمل من الأجسام الكيتونية. ولأنه توجد تأثيرات شبيهة بالعتبة الكلوية (لا يوجد هنا عتبة حقيقية) وتختلف بين الأنواع والأفراد، فإن قياس وجود الكيتون في الدم، وليس البيلة الكيتونية، هي طريقة ممتازة لتقدير وخامة فرط كيتون الجسم.



الشكل 8-24 : نقل الأجسام الكيتونية من الكبد وسبل استعماله وأكسدته في الأنسجة غير الكبدية.

ينظم تكون الكيتون عند ثلاث خطوات حاسمة:

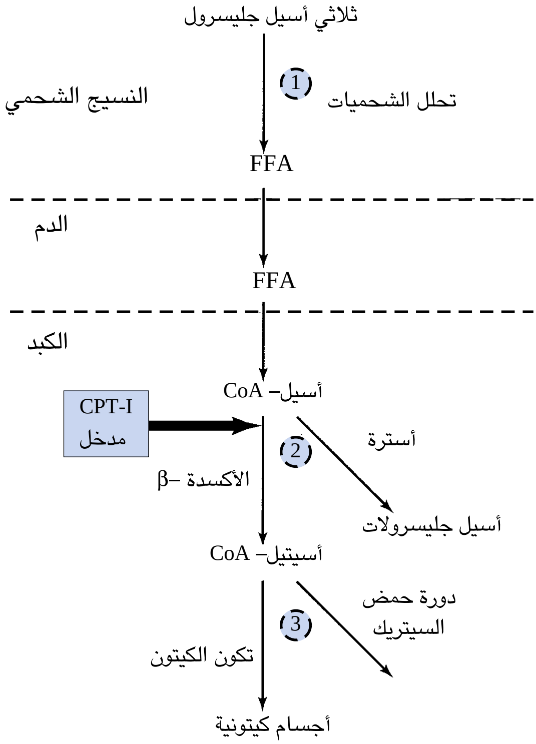
1 – تجري المراقبة مبدئياً في النسيج الشحمي. حيث لا يحدث فرط الكيتون في الجسم إن لم يكن هناك ازدياد بمستوى الأحماض الدهنية الحرة في الدم والتي

تنشأ عن التحلل الشحمي لثلاثي أسيل الجليسرول في النسيج الشحمي. والأحماض الدهنية الحرة هي بدورها طلائع للأجسام الكيتونية في الكبد. ويستطيع الكبد، في كل من حالتي الشبع والصيام، استخلاص نحو 30 ٪ من الأحماض الدهنية الحرة التي تعبره، بحيث أنه عند التراكيز العالية منها يكون التدفق الذي يمر إلى الكبد كبيراً. وبناء عليه، فإن العوامل المنظِّمة لتحريك الأحماض الدهنية الحرة من النسيج الشحمي مهمة في التحكم بتكوُّن الكيتون (الشكلان 24-9 و27-9).

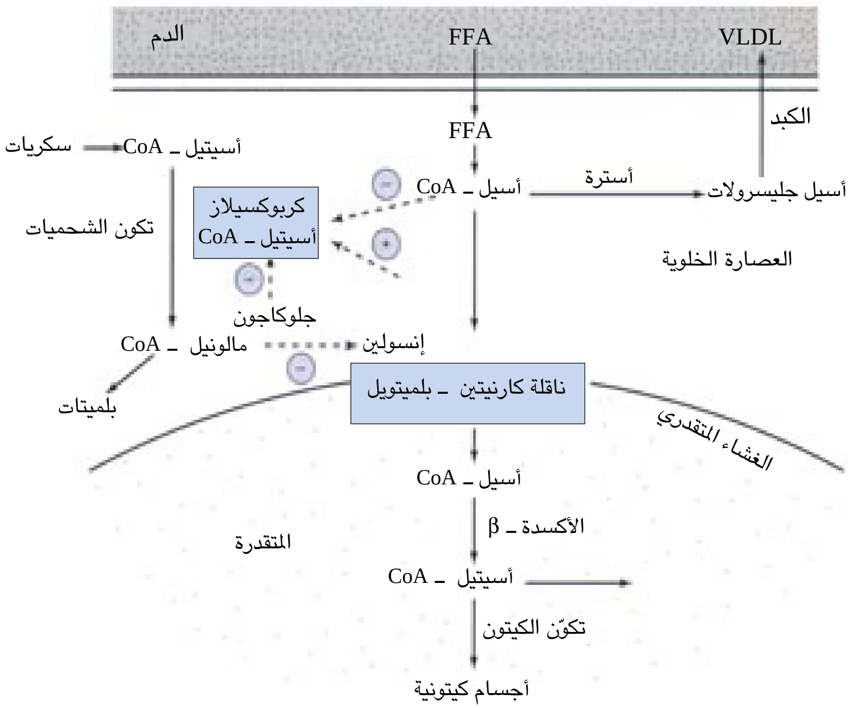
2 – هناك أحد مصيرين متوقعين للأحماض الدهنية الحرة بعد أن يقبطها الكبد ويتم تنشيطها بتحويلها إلى أسيل -CoA هما: خضوعها للأكسدة البتائية وتحولها إلى CO_2 وأجسام كيتونية، أو أسترتها إلى ثلاثي أسيل جليسرول وشحوم فسفورية. وتبدأ المراقبة عند دخول الأحماض الدهنية إلى السبيل التأكسدي، ويؤستر ما يتبقى من قبط الأحماض الدهنية. ولا يبدو أن سعة الأسترة تكون محدودة المعدل أو السرعة.

تنظم فاعلية إنزيم ناقلة بلميتويل الكارنيتين I (CPT-I) دخول زمر الأسيل طويلة السلسلة إلى المتقدرات قبل أن تخضع للأكسدة البتائية (الشكلان 24-1 و 24-10). حيث تكون فعاليته منخفضة في حالة الشبع، مما يؤدي إلى كبت أكسدة الأحماض الدهنية، في حين تكون فاعليته مرتفعةً في حال الجوع مما يسمح بزيادة أكسدة الأحماض الدهنية، ويتشكل المالونيل -CoA وهو المتوسط الأولي في تفاعلات التخليق الحيوي للأحماض الدهنية (الشكل 23-1)، بوساطة كربوكسيلاز أسيتيل -CoA في حالة الشبع وهو يعد مثبطاً قوياً لـ CPT-I. وتدخل، في مثل هذه الظروف، الأحماض الدهنية الحرة إلى الخلية الكبد بتراكيز منخفضة وتؤستر كلها تقريباً إلى مركبات أسيل الجليسرول، ثم تنقل من الكبد محمولة على بروتينات شحمية وضيعة الكثافة (VLDL). لكن ما إن يزداد تركيز الأحماض الدهنية الحرة مع بداية حالة الجوع، حتى يتثبط مباشرة كربوكسيلاز الأسيتيل CoA بوساطة الأسيل -CoA، ويتناقص [مالونيل -CoA] (أي يتناقص تركيزه) مما يؤدي إلى إزالة تثبيط CPT-I وهذا يسمح بالأكسدة البتائية للمزيد من أسيل -CoA. وتتعزز هذه الأحداث في حالة الجوع بسبب تناقص نسبة [الإنسولين] إلى [الجلوكاجون]. حيث

أن النتيجة المباشرة لهذا التناقص هي تثبيط كربوكسيلاز الأسيتيل -CoA في الكبد عن طريق الفسفتة التكافؤية (التساهمية) (الشكلان 24-10). وبذلك يتم التحكم بالأكسدة البتائية للأحماض الدهنية الحرة عن طريق ناقلة بلميتويل الكارنيتين –I في المتقدرات وبتوازن الأحماض الدهنية الحرة التي قبطت ولم تؤكسد بل جرت أسترتها.



الشكل 24-9 : تنظيم تكون الأجسام الكيتونية. إن الخطوات من (1)–(3) مهمة في سبيل أيض الأحماض الدهنية الحرة (FFA) والتي تحدد مقدار أو حجم تكون الكيتون (CPT-1: ناقلة كارنيتين ـ بلميتويل ـ1).



الشكل 24-10 : تنظيم أكسدة الأحماض الدهنية طويلة السلسلة في الكبد.

3 – ويتأكسد بدوره الأسيتيل -CoA، المتشكل عن الأكسدة البتائية، في دورة حمض السيتريك، أو يدخل إلى سبيل تكون الكيتون ليشكل الأجسام الكيتونية. وما إن يرتفع مستوى الأحماض الدهنية الحرة في المصل، حتى يتحول بشكل تناسبي الكثير من الأحماض الدهنية الحرة إلى أجسام كيتونية، في حين يتأكسد القليل منها بدورة حمض السيتريك إلى CO_2. ويتم بناء عليه تنظيم توازع الأسيتيل -CoA بين السبيل الجزئيي للكيتون وسبيل الأكسدة إلى CO_2 بحيث يبقى إجمالي ما يقتنص من الطاقة الحرة على شكل ATP، الناتجة عن أكسدة الأحماض الدهنية

الحرة، ثابتاً. ويمكن إدراك ذلك عندما نعلم أن الأكسدة التامة لجزئى واحد من البلميتات تعطي إنتاجاً صافياً مقداره 129 جزيئاً من الـ ATP عن طريق الأكسدة البتائية مع إنتاج الـ CO_2 في دورة حمض السيتريك (انظر أعلاه)، في حين يجري إنتاج 33 جزيئاً فقط من الـ ATP، عندما تكون الأسيتو أسيتات هي الناتج النهائي، و 21 جزئى عندما يكون الناتج النهائي هو 3- هيدروكسي بوتيرات. ويمكن بذلك النظر إلى سبيل تكون الكيتون على أنه الآلية التي تسمح للكبد بأن يؤكسد الكميات المتزايدة من الأحماض الدهنية في جملة الفسفتة التأكسدية المقترنة بإحكام دون أن يزداد إنفاقه الإجمالي من الطاقة.

لقد وضعت فرضيات عديدة أخرى لتفسير لماذا تتحول أكسدة الأحماض الدهنية من تشكيل الـ CO_2 إلى تكوين الكيتون. ويمكن القول من الناحية النظرية إن انخفاض تركيز الأكسالو أسيتات، بخاصة في المتقدرات، قد يضعف قدرة دورة حض السيتريك على أيض الأسيتيل CoA. حيث قد يحدث هذا الانخفاض بسبب ازدياد نسبة [NADH] إلى [NAD+] الناجمة عن ازدياد وتيرة الأكسدة البتائية.

كما أن ذلك قد يؤثر في التوازن القائم بين الأكسالوأسيتات والمالات مما يؤدي إلى انخفاض تركيز الأكسالوأسيتات. ومع ذلك فلقد عرض الباحثان أوتر (Utter) وكيتش (Keech) أنه يتم تنشيط كربوكسيلاز البيروفات، الذي يحفز تحول البيروفات إلى أكسالوأسيتات، بوساطة الأسيتيل -CoA. وهكذا، عندما توجد كميات مهمة من الأسيتيل -CoA، ينبغي توافر كمية كافية من أكسالوأسيتات للبدء بتفاعل التكاثف في دورة حمض السيتريك.

المظاهر السريرية:

يؤدي الاضطراب بأكسدة الأحماض الدهنية إلى أمراض غالباً ما تترافق مع نقص سكر الدم:

قد يحدث عوز الكارنيتين بشكل بارز عند الولدان ـ وبخاصة عند الأطفال الخدج ـ بسبب التخليق الحيوي غير الكافي، أو التسرب الكلوي. كما قد تحدث الخسائر

في الديال الدموي (Hemodialysis)؛ حيث يفقد المرضى ببيلة الأحماض العضوية كميات كبيرة من الكارنيتين، الذي يفرغ مقترناً بأحماض عضوية. وهذا يدل على حاجة بعض الأفراد للكارنيتين الغذائى كالحاجة للڤيتامينات تماماً. وتتضمن علامات وأعراض عوز الكارنيتين فترات عرضية من نقص سكر الدم بسبب تناقص استحداث السكر الناجم عن اضطراب أكسدة الأحماض الدهنية بوجود مستويات مرتفعة من الأحماض الدهنية الحرة في البلازما، مما يؤدي إلى تراكم الشحوم مع وهن عضلي. وتتم المعالجة بإعطاء جرعات فموية من الكارنيتين. وتكون الأعراض مشابهة لتلك في متلازمة راي (Reye's S.) (اعتلال دماغي مع تنكس دهني في الأحشاء)، التي يكون فيها الكارنيتين غير كاف، لكن غير معروف بعد سبب حدوث متلازمة راي.

يتأثر الكبد فقط في حالة العوز الوراثي لناقلة بلميتويل الكارنيتين I، مما يؤدي إلى تناقص كل من أكسدة الأحماض الدهنية وتكون الكيتون مع حدوث نقص سكر الدم. من جانب آخر، يؤثر عوز ناقلة بلميتويل الكارنيتين II في العضلات الهيكلية بالدرجة الأولى (وهن ونخر مع بيلة الميوجلوبين)، وهو يؤثر في الكبد في شكله الأكثر وخامة. وتقوم مركبات السلفونيل يوريا (البولات المكبرتة: من خافضات سكر الدم الفموية، الجليبوريد Glyburide والجليبنكلاميد Glibenclamide والتلبوتاميد Tolbutamide) بأسلوب مماثل بإنقاص أكسدة الأحماض الدهنية عن طريق تثبيط ناقلة بلميتويل الكارنيتين. وقد سجلت حالات قليلة لعوز ترانس لوكاز الكارنيتين ـ أسيل الكارنيتين.

تؤدي العيوب الوراثية في إنزيمات الأكسدة البتائية أيضاً إلى نقص سكر الدم غير الكيتوني والسبات وتشحم الكبد. حيث قد يسبب عوز نازعة هيدروجين 3 – هيدروكسي أسيل -CoA طويل السلسلة حدوث تشحم الكبد الحاد عند الحوامل. كما أنه من المعروف وجود عيوب في جينات كل من نازعة هيدروجين 3 – هيدروكسي أسيل -CoA قصير السلسلة وثيولاز 3– كيتو أسيل -CoA. وسجلت أيضاً أخطاء خلقية في تكون الكيتون، مثل عوز لياز HMG- CoA، الذي يؤثر أيضاً في تدرك اللوسين، وهو حمض أميني جزيئي للكيتون (الفصل 32).

ينجم داء القيء عند الجـامـايكيين (Jamaican Vomiting Sickness) عن تناول فاكهة شجرة الأك (Akee) غير الناضجة، التي تحوي سماً هو الهيبوجليسين (Hypoglycin)، الذي يعطل (يزيل نشاط) نازعة هيدروجين أسيل -CoA قصير ومتوسط السلسلة، مما يثبط الأكسدة البتائية ويؤدي لنقص سكر الدم مع إفراغ أحماض أحادية وثنائية الكربوكسيل متوسطة وقصيرة السلسلة.

وتتصف بيلة الأحماض ثنائية الكربوكسيل بإفراغ الأحماض $\omega\ C_6 - C_{10}$ ثنائية الكربوكسيل وبنقص سكر الدم غير الكيتوني. وهي تنجم عن فقدان نازعة هيدروجين أسيل -CoA متوسط السلسلة في المتقدرات. حيث يسبب ذلك خللاً في الأكسدة البتائية لكن مع ازدياد الأكسدة – ω للأحماض الدهنية طويلة ومتوسطة السلسلة، التي تصبح أقصر بسبب الأكسدة البتائية فتتحول لأحماض ثنائية الكربوكسيل متوسطة السلسلة يتم إفراغها. وقد سجلت حديثاً حالات عوز نازعة هيدروجين أسيل -CoA ذي السلاسل الطويلة جداً والطويلة والقصيرة، إلى جانب عوز ردكتاز 2، 4 ـ ثنائي إينويل -CoA، الذي يؤدي إلى إفراغ 2 ـ مفروق ـ 4– مقرون ـ ديكاثنائي إينويل الكارنيتين بسبب القصور في الأكسدة البتائية للأحماض الدهنية متعددة اللاإشباع.

ويعد داء ريفسوم (Refsum's D.) اضطراب عصبي نادر ينجم عن تراكم حمض الفيتانيك، المتشكل من الفيتول، وهو مكون في الكلوروفيل الموجود في الأطعمة النباتية. ويحوي حمض الفيتانيك زمرة ميثيلية عند الكربون 3 تقوم بمحاصرة الأكسدة البتائية. حيث أن الذي يحدث في الحالة السوية، هو أن الأكسدة – α (ألفا) الابتدائية تنزع هذه الزمرة الميثيلية، لكن الأفراد المصابين بداء ريفسوم لديهم عيب وراثي في الأكسدة ـ؟مما يسمح بتراكم حمض الفيتانيك.

تحدث متلازمة زيلويجر (Zellweger's S) (الدماغية الكبد الكلوية) عند الأفراد الذين لديهم غياب وراثي نادر للجسيمات البيروكسية من كل الأنسجة. وتتراكم عندهم أحماض C38-C26 متعددة الإينونيك (متعددة الروابط المضاعفة Polyenoic) في النسيج الدماغي بسبب عدم القدرة على أكسدة الأحماض الدهنية طويلة السلسلة في الجسيمات البيروكسية، كما يبدي المرضى أيضاً خسارة عامة في

وظائف الجسيمات البيروكسية، مثل تضرر تخليق الأحماض الصفراوية والشحوم الإيثيرية.

ينتج الحماض الكيتوني عن فرط كيتون الجسم طويل الأمد

إن الأجسام الكيتونية الموجودة في الدم أو في البول بكميات تفوق الحدود السوية تسبب وجود الكيتون في الدم (Ketonemia) أو البيلة الكيتونية (Ketonuria) على الترتيب. وتعرف الحالة العامة بفرط كيتون الجسم (الخُلال: Ketosis) حيث يُعد كل من الأسيتوأسيتيك و 3- هيدروكسي بوتيرات أحماضاً متوسطة القوة ويخضعان للدرء (Buffered) عندما يوجدان في الدم أو في أنسجة أخرى. إلا أن إفراغهما المتواصل بكميات كبيرة يؤدي إلى ضياع بعض الكاتيونات (الهوابط) الدارئة (على الرغم من إنتاج الأمونيا في الكلية) مما يستنزف تدريجياً الاحتياطي القلوي، مسبباً بذلك الحماض الكيتوني (Ketoacidosis) الذي قد يكون مميتاً في حالة داء السكري غير المضبوط.

يحدث الشكل الأبسط من فرط كيتون الدم في الجوع، وهو يتضمن نفاد السكريات المتاحة المقترن مع تريك الأحماض الدهنية الحرة. ويبدو أنه لا توجد حالة أخرى يحدث فيها فرط كيتون الدم وتختلف نوعياً عن هذا الطراز الأيضي العام، لكنها قد تكون من الناحية الكمية حالة مبالغ فيها تسبب حالات مرضية توجد في داء السكري وفي الانسمام الحملي عند الأغنام، وفرط كيتون الدم عند رؤوس الماشية المرضعة. كما توجد أشكال غير مرضية من فرط كيتون الدم في ظروف التغذية الغنية بالمواد الدهنية وبعد التمارين الشديدة في حالة ما بعد الامتصاص.

الخلاصة:

1 – تؤدي أكسدة الأحماض الدهنية في المتقدرات إلى توليد كميات كبيرة من الـ ATP بعملية تسمى الأكسدة البتائية التي تقتطع وحدات الأسيتيل -CoA بالتدريج من سلاسل أسيل الأحماض الدهنية. ويؤكسد الأسيتيل -CoA في دورة حمض السيتريك جزئياً المزيد من الـ ATP.

2– تعطي أكسدة الأحماض الدهنية العدد المفرد ذاته من ذرات الكربون الأسيتيل -CoA مع جزيء واحد من البروبيونيل -CoA، الذي هو مركب جزئيد للسكر.

3 – تكون الجسيمات البيروكسية قادرة على أكسدة الأحماض الدهنية ذات السلاسل الطويلة جداً، ولكن حتى مرحلة الأوكتانويل -CoA فقط، الذي يجب نقله بعد ذلك إلى المتقدرات ليخضع للأكسدة من جديد.

4 – تتشكل الأجسام الكيتونية (الأسيتوأسيتات و 3– هيدروكسي بوتيرات والأسيتون) في متقدرات الكبد، حيث يكون هناك معدل مرتفع من أكسدة الأحماض الدهنية. ويتضمن سبيل تكون الكيتون تخليق وتحطيم 3 – هيدروكسي ـ3 ـ ميثيل جلوتاريل (HMG-CoA) -CoA بوساطة إنزيمين أساسيين جزئيدين للكيتون، هما سنتاز HMG-CoA ولياز HMG-CoA.

5 – الأجسام الكيتونية وقود مهم في الأنسجة خارج الكبدية.

6 – ينظم تكون الكيتون عند ثلاث خطوات حاسمة هي (1) التحكم بتحريك الأحماض الدهنية الحرة من النسيج الشحمي (2) فاعلية ناقلة بلميتويل الكارنيتين I في الكبد، التي تحدد نسبة تدفق الأحماض الدهنية التي تؤكسد عوضاً عن أسترتها. و (3) تقاسم الأسيتيل -CoA بين سبيل تكون الكيتون ودورة حمض السيتريك.

7 – تؤدي الأمراض المترافقة مع اضطراب أكسدة الأحماض الدهنية إلى نقص سكر الدم وارتشاح شحمي في الأعضاء ونقص الكيتون في الدم.

8 – يكون فرط كيتون الجسم معتدلاً في الجوع، لكنه يكون شديداً في الداء السكري وفي فرط كيتون الجسم عند المجترات.

9 – هي G لتفاعل الـ ATP، كما تم شرحه في (الفصل 19).

10 – يجب عدم استخدام مصطلح «كيتونات» لأن 3 – هيدروكسي بوتيرات ليس كيتوناً، كما توجد كيتونات في الدم وهي في الحقيقة ليست أجساماً كيتونية مثل البيروڤات والفركتوز.

*** References:**

Eaton S, Bartlett K, Pourfarzam M: Mammalian mitochonial p-oxidation. *Biochem J* 1996;320:345.

Mayes PA, Laker ME: Regulation of ketogenesis in the 31iver.*Biochem Soc Trans* 1981:9:339.

McGarry JD, Foster DW: Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. *Annu Rev Biochem* 1980;49:395.

Osmundsen H, Hovik R: ,B-Oxidation of polyunsaturated fanyacids. *Biochem Soc Trans* 1988;16:420.

Pbulos A: Lipid metabolism in Zellweger's syndrome. *Prog Lipid Res* 1989;28:35.

Reddy JK, Mannaerts GP: Peroxisomal lipid metabolism. *Annu Rev Nutr* 1994;14:343.

Scholte HR et al: Primary carnitine deficiency. *J Clin Chem Biochem* 1990;28:351.

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed. McGraw-Hill, 1995.

Treem WR et al: Acute fatty liver of pregnancy and longchain 3-hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency. *Hepatology* 1994;19:339.

الفصل الخامس والعشرون

أيض الأحماض الدهنية اللامشبعة والإيكوزانويدات

Metabolism of Unsaturated Fatty Acids and Eicosanoids

مقدمة:

تمتلك الأنسجة الحيوانية، بالمقارنة مع النباتات، قدرة محدودة على نزع إشباع الأحماض الدهنية. وهذا يستلزم أن يكون المدخول الغذائي محتوياً أحماضاً دهنية معينة متعددة اللاإشباع مشتقة بشكل أساسي من مصدر نباتي. وتؤدي هذه الأحماض الدهنية الضرورية إلى تشكيل الأحماض الدهنية الإيكوزانويكية (C20)، التي تشتق منها فصائل من المركبات تعرف بالإيكوزانويدات (Eicosanoids)، ينشأ عنها البروستاجلاندنيات والثرومبوكسانات واللوكوترينات والليبوكسينات.

الأهمية الطبية البيولوجية:

إن محتوى الدهن الطبيعي من الأحماض الدهنية اللامشبعة هو الذي يحدد بشكل رئيس نقطة انصهاره، وبناء عليه درجة سائليته (سيولته: Fluidity). وعلى نحو مشابه، تحوي الشحميات الفسفورية في الغشاء الخلوي أحماضاً دهنية لا

مشبعة مهمة في الحفاظ على سائلية الغشاء. وتعد النسبة المرتفعة للأحماض الدهنية متعددة اللاإشباع إلى الأحماض الدهنية المشبعة (نسبة P إلى S) في الغذاء عاملاً رئيسياً في تخفيض تراكيز الكوليسترول في البلازما بالوسائل الغذائية، كما تُعد عاملاً مفيداً في الوقاية من الأمراض القلبية التاجية. إن البروستاجلاندينات والثرومبوكسانات هرمونات موضعية يتم تخليقها بسرعة عند الحاجة إليها، وهي تعمل قرب مواقع تخليقها. والأدوار الفيزيولوجية الرئيسة التي تلعبها البروستاجلاندينات هي كمعدلات لفعالية سيكلاز (محلقة) الأدينيليل (الأدينيلات)، كما في: (1) مراقبة تكدس الصفيحات و (2) في تثبيط تأثير الهرمون المُضاد للإدرار في الكلية. وتعمل الأدوية المضادة للالتهاب غير الستيرويدية، مثل الأسبرين، عن طريق تثبيط تخليق البروستاجلاندينات. وتتمتع اللوكوترينات بخصائص مقلصة للعضلات وبالجذب الكيميائي، مما يفترض أنها ذات أهمية في التفاعلات الأرجية (التحسسية: Allergic) وفي الالتهاب. ولقد تم تحديد مزيج من اللوكوترينات على أنه مادة ذات تفاعل بطيء تجاه التأق (Anaphylaxis) (الحساسية تجاه بروتين غريب أدخل إلى الجسم) (SRS-A). ويمكن، عن طريق تغيير نسب الأحماض الدهنية متعددة اللاإشباع المختلفة في الغذاء، التأثير في نمط الإيكوزانويدات عند تخليقها، وهذا يشير إلى إمكانية التأثير في مجريات المرض بالوسائل الغذائية.

لا يمكن تخليق بعض الأحماض الدهنية متعددة اللاإشباع عند الثدييات لذلك فهي أساسية غذائياً

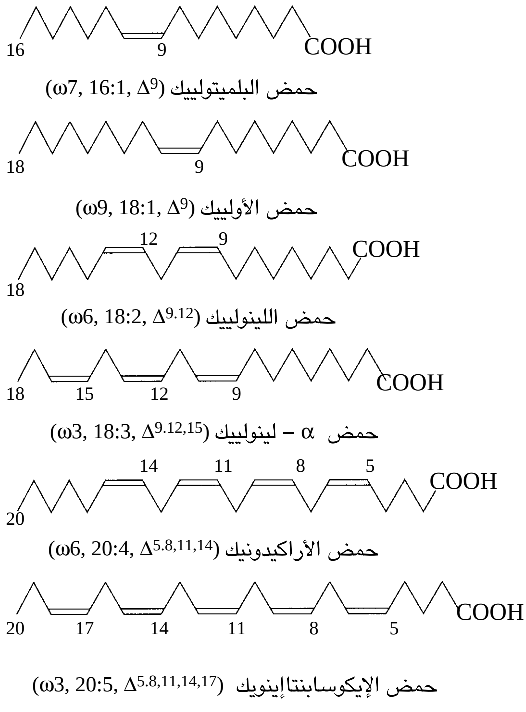
يعرض (الشكل 25-1) بعض الأحماض الدهنية اللامشبعة طويلة السلسلة ذات الأهمية الأيضية عند الثدييات. (انظر الفصل 16 لمراجعة تسمية الأحماض الدهنية). يمكن الكشف عن أحماض دهنية أخرى متعددة الروابط المضاعفة C_{20} و C_{22} و C_{24} في الأنسجة. وهي قد تشتق من أحماض الأولييك واللينولييك و α ـ لينولينيك عن طريق إطالة السلسلة. ومن الملاحظ أن كل الروابط المضاعفة الموجودة في الأحماض الدهنية اللامشبعة الموجودة بشكل طبيعي عند الثدييات هي من الشكل المقرون.

إن حمضي البلميتولييك والأولييك غير أساسيين في الغذاء، لأن الأنسجة قادرة على إدخال رابطة مضاعفة عند الموضع Δ^9 في الحمض الدهني المشبع الموافق. حيث بينت التجارب باستخدام البلميتات الموسومة أن الميسم (الوسم: Label) يدخل بسهولة إلى حمض البلميتولييك والأولييك لكنه يغيب من حمضي اللينولييك Linoleic و α– لينولينيك (α- Linolenic) وهذان هما الحمضان الدهنيان الوحيدان المعروف بأنهما أساسيان للتغذية الكاملة للعديد من أنواع الحيوانات، بما فيها الإنسان، لذلك ينبغي توفير هما في الغذاء؛ وبالتالي فهما يعرفان بالأحماض الدهنية الأساسية غذائياً. يمكن أن يتشكل حمض الأراكيدونيك (Arachidonic) من حمض اللينولييك عند معظم الثدييات (الشكل 25-4) لكن ليس عند عائلة الهررة، حيث يجب تصنيفه كحمض دهني أساسي. يمكن، عند أغلب الثدييات، إدخال رابطة مضاعفة في المواضع Δ^9 وΔ^6 و Δ^5 و Δ^4 (ابتداء العد من النهاية الكربوكسيلية؛ انظر الفصل 16)، لكن ليس خلف الموضع Δ^9. وعلى العكس من ذلك، تستطيع النباتات إدخال روابط مضاعفة إضافية عند المواضع Δ^{12} و Δ^{15} ، فيمكنها بذلك تخليق الأحماض الدهنية الأساسية غذائياً.

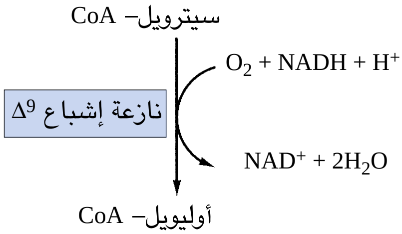
يتم تخليق الأحماض الدهنية أحادية اللاإشباع بوساطة جملة نزع الإشباع عند Δ^9:

بقدر ما تكون الأحماض الدهنية أحادية اللاإشباع اللاأساسية مهمة، بقدر ما تكون العديد من الأنسجة بما فيها الكبد مسؤولة عن تشكيلها من الأحماض الدهنية المشبعة. حيث أن الرابطة المضاعفة الأولى، التي يتم ادخالها في الحمض الدهني المشبع، تكون دائماً تقريباً في الموضع Δ^9. وتوجد جملة إنزيمية هي نازعة إشباع Δ^9 (Desaturase Δ^9) (الشكل 25-2)، في الشبكة الهيولية الباطنية، تحفز تحوُّل البلميتويل -CoA أو الستيرويل -CoA إلى البلميتوليويل -CoA أو أوليويل -CoA على الترتيب. ويتطلب هذا التفاعل وجود الأكسجين وإما NADH أو إما NADPH. ويبدو أن الإنزيمات تكون مماثلة لجملة أُحادية الأكسيجيناز متضمنة السيتوكروم b_5 (الفصل 13). حيث تتألف من ثلاث مكونات بروتينية هي مختزلة السيتوكروم b_5

المرتبط بـ NADH والسيتوكروم b_5 ونازعة الإشباع الحساسة للسيانيد الحاوية حديد لاهيمي. الجدير ذكره أن آلية نزع الهيدروجين من سلسلة الأسيل غير مفهومة بشكل كامل بعد.



الشكل 25-1 : بنية بعض الأحماض الدهنية اللامشبعة. على الرغم من ترقيم ذرات الكربون في الجزيء بشكل تقليدي، أي الترقيم بدءاً من الطرف الكربوكسيلي، إلا أنه يتم استنتاج الأرقام ω (مثلω^7 في حمض البلميتولييك) من النهاية المعكسية (الطرف الميثيلي) للجزيئات. وتُظْهر المعلومات التي بين قوسين، على سبيل المثال، أن حمض α– ألفا لينولينيك يحوي روابط مضاعفة تبدأ من الكربون الثالث بدءاً من الطرف الميثيلي، وفيه 18 ذرة كربون وثلاث روابط مضاعفة عند مواقع ذرات الكربون 19 و12 و 15 بدءاً من الطرف الكربوكسيلي. (تعني النجمة أن هذا الحمض مصنف كحمض دهني أساسي).



الشكل 25-2 : إنزيم نازعة إشباع Δ^9 الصغروري (في الجسيمات الصغرية).

يتضمن تخليق الأحماض الدهنية متعددة اللاإشباع جملتين من إنزيمات الإطالة ونازعة الإشباع:

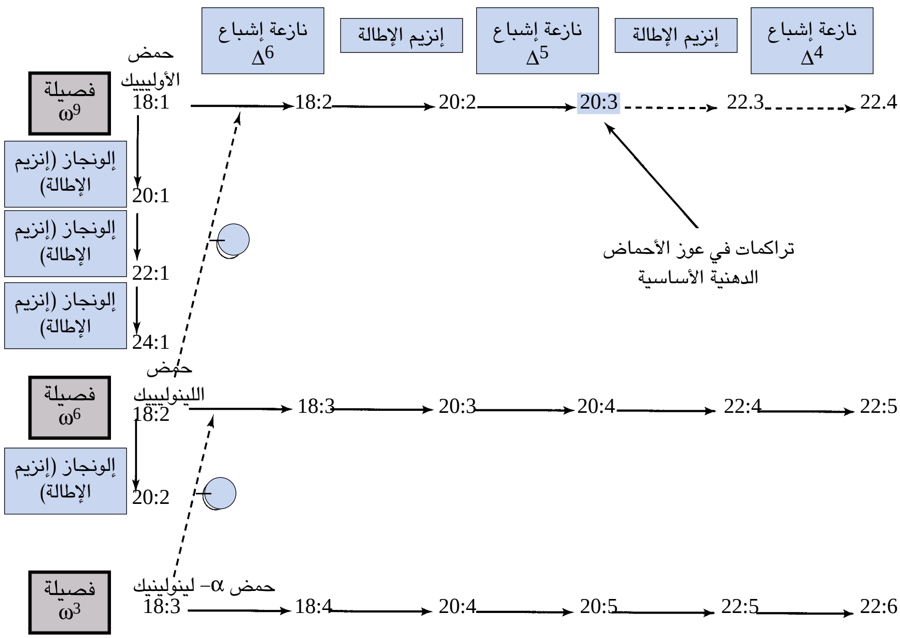
إن الروابط المضاعفة التي يجري إدخالها إضافياً إلى الأحماض الدهنية أحادية اللاإشباع الموجودة، تكون دائماً منفصلة عن بعضها بعضاً بوساطة زمرة ميثيلينية (ميثيلين معترض)، ولا يحدث ذلك في الجراثيم. أما في الحيوانات الأرقى، فإنه يجري إدخال كل الروابط المضاعفة الإضافية بين الرابطة المضاعفة الموجودة أصلاً وزمرة الكربوكسيل، في حين تقوم النباتات الأعلى بإدخالها بين الرابطة المضاعفة الموجودة والكربون ω (النهاية الميثيلية). لذلك، بما أنه لدى الحيوانات الإنزيم نازعة الإشباع Δ^9، فهي قادرة على تخليق الفصيلة Δ^9 (حمض الأولييك) من الأحماض الدهنية اللامشبعة بشكل كامل باشتراك عمليتي إطالة السلسلة ونزع إشباعها (الشكل 25-3). لكن، ولأنها غير قادرة على تخليق الحمضين اللينولييك (ω6) أو α لينولينيك (ω3) بسبب غياب نازعة الإشباع المطلوبة، فإنه يجب الحصول على هذه الأحماض من الغذاء لإنجاز تخليق الأعضاء الآخرين من فصائل ω6 و ω3 الأحماض الدهنية متعددة اللاإشباع. وقد تتحول اللينوليات إلى الأراكيدونات (الشكل 25-4). حيث يتم في السبيل أولاً نزع الهيدروجين من إستر CoA- عبر γ– لينولينات، ويتبع ذلك إضافة وحدة ثنائية الكربون عن طريق مالونيل CoA- في جملة

الجسيمات الصغرية لإطالة السلسلة (الشكل 23-6) ويعطي ذلك الإيكوزاترينوات (Eicosatrienoate) (ثنائي γ- لينولينات المتجانس). حيث تشكل هذه الأخيرة الأراكيدونات بإجراء نزع هيدروجين إضافي. وتكون الجملة النازعة للهيدروجين مماثلة لتلك التي سبق وصفها الخاصة بالأحماض الدهنية المشبعة. لذلك يمكن الاستغناء عن الحاجة الغذائية للأراكيدونات إذا توافرت كميات كافية من اللينوليات في الغذاء. وباستثناء البلميتات (1:16، ω7) والحمض الدهني الموافق لـ 1:18، ω7، الذي يوجد في الدماغ المتطور، فإن الأحماض الدهنية الباقية من فصيلة ω7 لا توجد بأية كمية. وتتناقص جملة إزالة الإشباع وإطالة السلسلة بشكل كبير في حالة الصيام، وعند إعطاء الجلوكاجون والإبينفرين، وفي غياب الإنسولين في النمط I من الداء السكري.

تظهر أعراض العوز عندما تغيب الأحماض الدهنية الأساسية (EFA)من الغذاء:

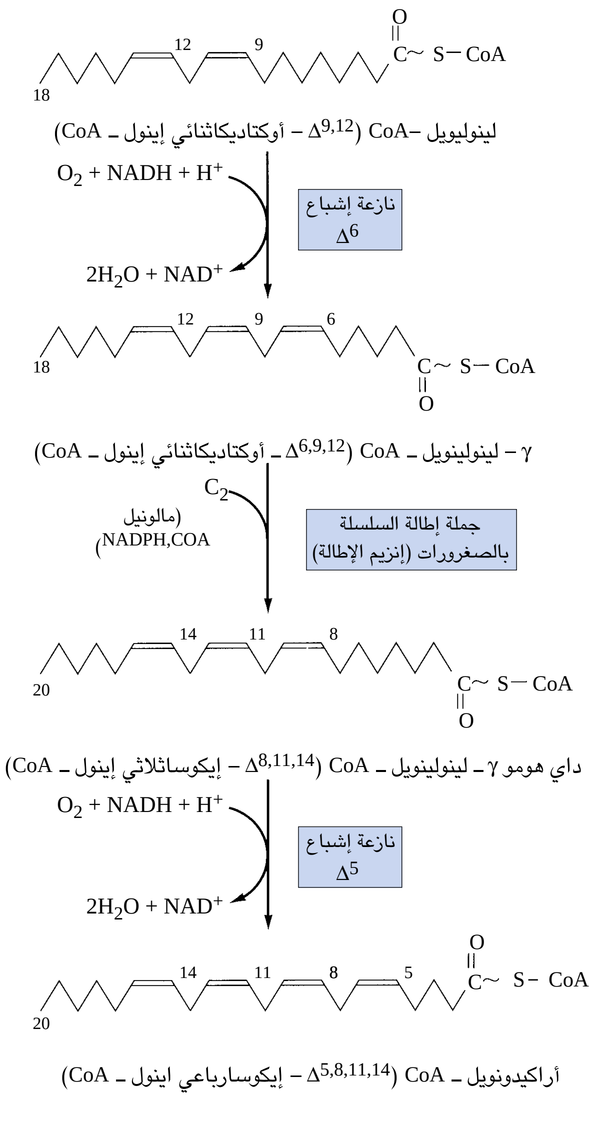
لاحظ الباحثان إيڤانز (Evans) وبور (Burr) في عام 1928 أن الجرذان التي تتغذى على غذاء نقي غير شحمي أضيفت إليه الڤيتامينات A و D، تبدي معدل نمو منخفض وعجزاً تواليدياً. وبينت الأعمال اللاحقة أن متلازمة العوز قد شفيت بإضافة كل من الأحماض اللينوليك و α لينولينيك والأراكيدونيك إلى الغذاء. وتتضمن الملامح التشخيصية الأخرى للمتلازمة كلاً من الجلد المتفلس (Scaly skin المتحرشف)، ونخر في الذنب، وآفات في الجهاز البولي، ومع ذلك فهذه الحالة غير مميتة. وتوجد هذه الأحماض الدهنية بتراكيز عالية في الزيوت النباتية المختلفة (الجدول 16-2) وبكميات قليلة في الذبائح الحيوانية.

من الواضح أن للأحماض الدهنية الأساسية وظائفاً متعددة، على الرغم من أنها غير محددة بشكل جيد، بصرف النظر عن تشكيل البروستاجلاندينات واللوكوترينات (انظر فيما بعد). وتوجد الأحماض الدهنية الأساسية في الشحميات البنيوية بالخلية كما أن لها صلة بالتكامل البنيوي للغشاء المتقدري.



الشكل 3-25 :التخليق الحيوي للفصائل ω^9 و ω^6 و ω^3 من الأحماض الدهنية متعددة اللاإشباع يتم تحفيز كل خطوة بجملة لإطالة السلسلة أو لنزع الإشباع في الجسيمات الصغرية. إن وجود نازعة إشباع Δ^4 هو قيد التحقق. إلا أنه يمكن مخاتلة (تجاوز) هذه الخطوة بإطالة السلسلة إضافياً ثم بنزع إشباع Δ^6 وبعد ذلك بالأكسدة البيتائية في الجسيمات البيروكسية وذلك لنزع وحدة ثنائية الكربون.

وتصبح الأحماض الدهنية ω^9 متعددة اللاإشباع مهمة من الناحية الكمية فقط عندما يُسحب حمضي اللينولييك و α – لينولينيك من الغذاء. وذلك لأن كل سلسلة تتنافس على الجمل الإنزيمية ذاتها، ولأن الألفة تتناقص من السلسلة ω^3 إلى ω^9 (: تثبيط).شباع Δ9 الصغروري (في الجسيمات الصغرية).



الشكل 25-4 : تحول اللينوليات إلى الأراكيدونات. لا تستطيع القطط إنجاز هذا التحويل بسبب افتقارها لنازعة إشباع Δ^6 لذا يجب أن تحصل على الأراكيدونات من غذائها.

يوجد حمض الأراكيدونيك في الأغشية وهو يشكل ما بين 5-15٪ من الأحماض الدهنية في الشحميات الفسفورية. أما حمض الدوكوساهكزاإنويك (DHA؛ ω3، 6:2)، الذي يتم تخليقه من حمض α – لينولينيك أو يمكن الحصول عليه مباشرة من زيوت الأسماك، فهو يوجد بتراكيز مرتفعة في الشبكية والقشرة المخية والخصى والنطاف. ويكون DHA ضرورياً بشكل خاص لنمو الدماغ والشبكية، حيث يتم تأمينه عن طريق المشيمة والحليب. تحوي القطع الخارجية من عصي الشبكية تراكيز مرتفعة جداً من DHA، مع معظم الشحميات الفسفورية المحتوية جزيء واحد على الأقل. ويبدو أن السائلية المرتفعة الناجمة عن ذلك تكون ضرورية لوظيفة الرودبسين، فبتنشيطه بالفوتون تحدث حركة جانبية ودورانية في الغشاء. وقد تبين أن المرضى بالتهاب الشبكية الصباغي (Retinitis pigmentosa) لديهم مستويات منخفضة من DHA في الدم. كما أن الأطفال الخدج لديهم نازعة إشباع Δ^4 ذات قدرة منخفضة، مما يؤدي لتراجع قدرتهم على تخليق DHA من طلائع الأحماض الدهنية n-3.

توجد الأحماض الدهنية الأساسية، في العديد من وظائفها البنيوية، ضمن الشحميات الفسفورية، وبشكل رئيس في الموضع 2. وفي عوز الأحماض الدهنية الأساسية، تستبدل أحماض لاأساسية متعددة الروابط المضاعفة من فصيلة ω9 بأحماض دهنية أساسية وذلك في الشحميات الفسفورية، وفي شحميات معقدة أخرى وفي الأغشية، وبخاصة بحمض الأيكوزاترينويك $\Delta^{11.8.5}$ (الشكل 25-3).ويمكن استخدام نسبة ثلاثية الروابط المضاعفة (Triene) إلى رباعية الروابط المضاعفة (Tetraene) في الشحميات البلازمية لتشخيص درجة عوز الأحماض الدهنية الأساسية.

قد تتنافس الأحماض الدهنية ـ المفروقة مع الأحماض الدهنية ـ المقرونة:

توجد كميات قليلة من الأحماض الدهنية اللامشبعة من الشكل المفروق في دهون المجترات (مثلاً، هي تشكل نحو 2-7 ٪ في دهن الزبدة)، وهي تنتج بتأثير الأحياء

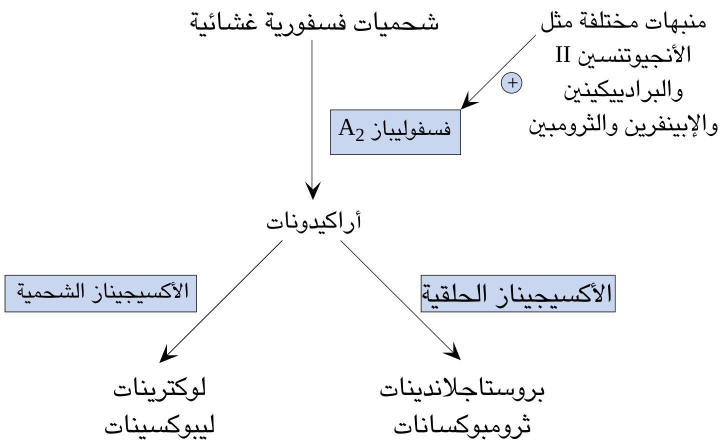
المجهرية في الكرش، لكن وجود كميات كبيرة من الأحماض الدهنية اللامشبعة ـ المفروقة في الزيوت النباتية المهدرجة جزئياً (كالمرجرين) يطرح تساؤلاً عن مدى سلامتها كمضافات غذائية. وتبين عند فتح الجثث وجود حتى نسبة 15٪ من الأحماض الدهنية النسيجية في الشكل المفروق. ولم تثبت الدراسات حتى تاريخه وجود تأثيرات خطيرة، إلا أنه يجري أيضها كأحماض دهنية مشبعة أكثر مما لو كانت أحماض دهنية غير مشبعة ـ مقرونة، وقد يكون ذلك عائداً لهيئتها المتشابهة ذات السلسلة المستقيمة (الفصل 16). وهي في هذا الشأن تميل لأن ترفع مستويات LDL وتخفض مستويات HDL، لذلك فهي ذات مدلول مهم فيما يتعلق بالوقاية من التصلب العصيدي والأمراض القلبية التاجية (الفصل 28). ولا تملك الأحماض الدهنية متعددة اللاإشباع المفروقة فاعلية الأحماض الدهنية الضرورية وقد تعرقل أيض الأحماض الدهنية الضرورية وقد تؤدي إلى استفحال عوز الأحماض الدهنية الضرورية.

تتشكل الإيكوزانويدات من الأحماض الدهنية متعددة اللاإشباع C_{20}:

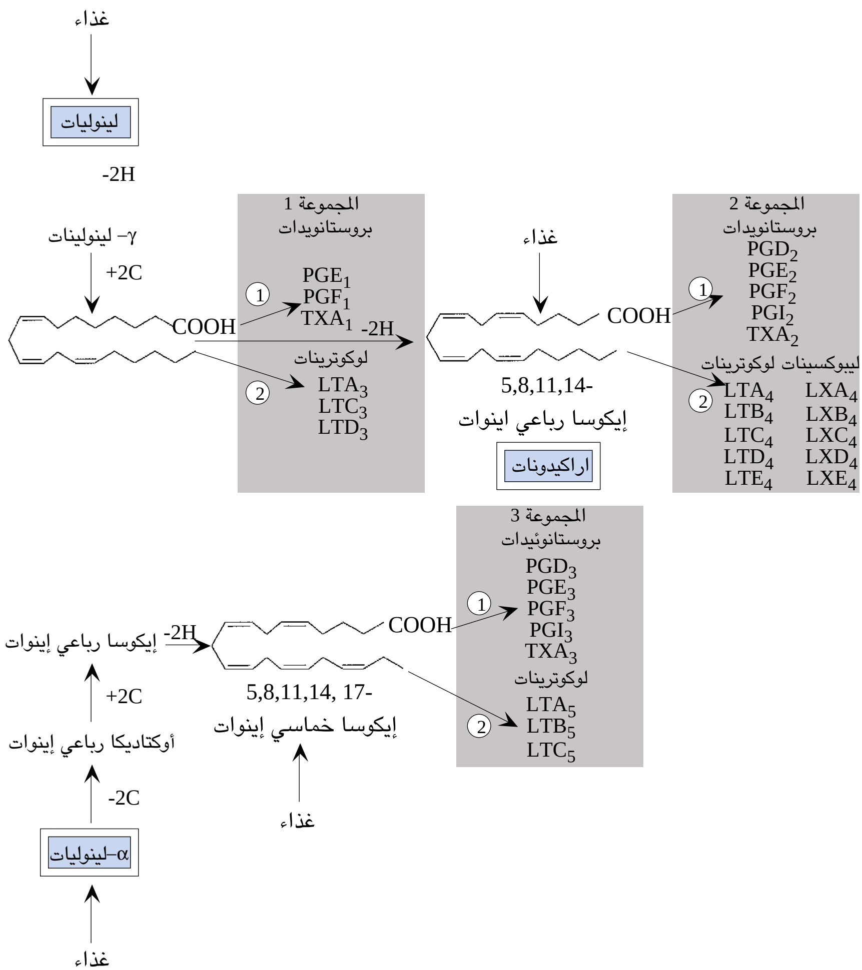
إن الأراكيدونات وبعض الأحماض الدهنية الأخرى التي عدد ذرات الكربون فيها عشرون والمحتوية روابط مضاعفة متقاطعة بالميثيلين تعطي الإيكوزانويدات (Eicosanoids)، وهي مركبات فعالة فيزيولوجياً ودوائياً معروفة كالبروستاجلاندينات (Prostaglandins;PG)، والثرومبوكسانات (Thromboxanes) (TX)، واللوكوترينات (Leukotrienes;LT) والليبوكسينات (Lipoxins;LX) (الفصل 16). وترى الدراسات أن هذه المركبات تعمل من الناحية الفيزيولوجية كهرمونات موضعية حيث يتحقق ذلك عن طريق المستقبلات المرتبطة بالبروتين G- لإحداث تأثيراتها الكيميائية الحيوية. تعد الأراكيدونات، المشتقة عادة من الوضعية 2– للشحميات الفسفورية في الغشاء البلازمي، نتيجةً لفاعلية الفسفوليباز A_2 (الشكل 26-6)، ركيزة لتخليق المركبات PG_2 و TX_2 و LT_4 و LX_4. وتكون السبل الأيضية

متباعدة ومختلفة، حيث يتناف تخليق سلسلة المركبات PG_2و TX_2 (البروستانويدات Prostanoids) مع تخليق LT_4 و LX_4 على الركيزة التي هي الأراكيدونات. ويعرف هذان السبيلان بسبيلي الأكسيجيناز الحلقية (Cyclooxygenase)والأكسيجيناز الشحمية (Lipoxygenase) على الترتيب (الشكل 25-5).

توجد ثلاث مجموعات من الإيكوزانويدات (تتضمن كل منه PGI و TX و LT ومن المحتمل LX) يتم تخليقها من الأحماض C_{20} الإيكوزانويكية المشتقة من الحمضين الدهنيين الضروريين اللينوليات (Linoleate) و α– لينولينات – (α- linolenate)، أو مباشرة من الأراكيدونات والإيكوزابنتاإينوات المتوافرة في الغذاء (الشكل 25-2).



الشكل 25-5 :تحول حمض الأراكيدونيك إلى البروستاجلاندينات والثرومبوكسانات عن طريق سبيل الأكسيجيناز الحلقية وإلى اللوكوترينات والليبوكسينات عن طريق سبيل الأكسيجيناز الشحمية.



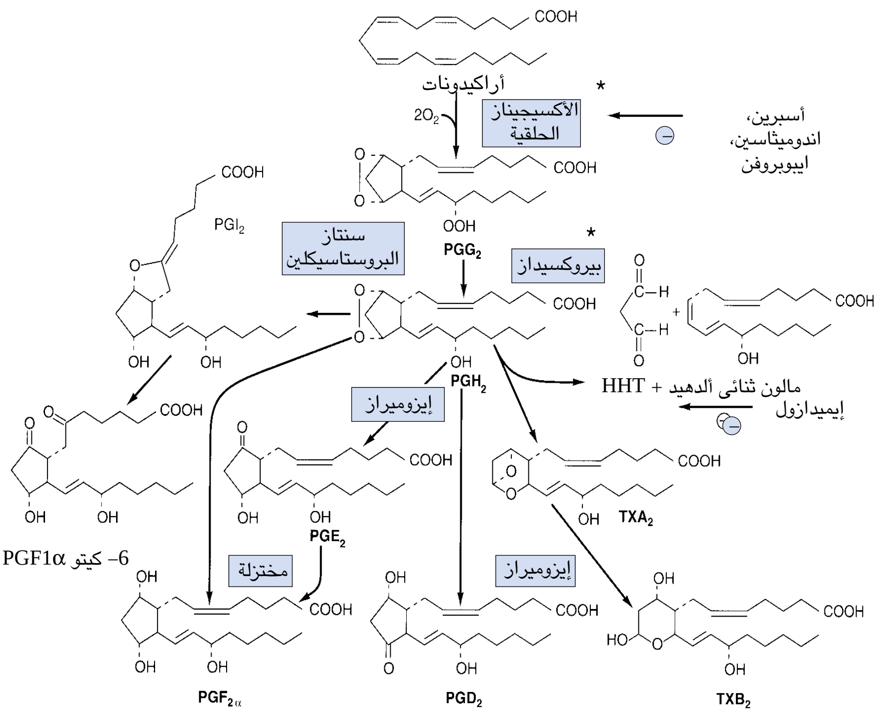
الشكل 6-25 : المجموعات الثلاثة من الإيكوزانويدات وأصولها في التخليق الحيوي. (PG: بروستاجلاندين؛ PG: بروستاسيكلين؛ TX: ثرومبوكسان؛ LT: لوكوترين؛ LX: ليبوكسين؛ (1): سبيل الأكسيجيناز الحلقية؛ (2): سبيل الأكسيجيناز الشحمية). تشير التعليقات أسفل الأشكال إلى العدد الإجمالي من الروابط المضاعفة في الجزيء أو إلى السلسلة التي ينتمي المركب إليها.

إن سبيل الأكسيجيناز الحلقية مسؤول عن تخليق البروستانويدات:

يتضمن تخليق البروستانويد (الشكل 25-7) استهلاك جزيئين من O_2 بتحفيز سنتاز البروستاجلاندين H (PGHS)، الذي يتمتع بفاعليتين إنزيميتين مستقلتين هما الأكسيجيناز الحلقية (Cyclooxygenase) والبيروكسيداز (Peroxidase) .يوجد PGHS بشكل نظيرين إنزيمين هما PGHS –1 وPGHS–2، يمتلك كل منهما فعاليتي الأكسيجيناز الحلقية والبيروكسيداز. ويتحول ناتج سبيل الأكسيجيناز الحلقية، وهو البيروكسيد الداخلي PGH (Endoperoxide)، إلى البروستاجلاندين Dو Eو F وأيضاً إلى الثرومبوكسان (TXA2) والبروستاسيكلين (PGI2). وينتج كل نمط خلوي نمطاً واحداً فقط من الثروستانويدات. من جانب آخر، يثبط الأسبرين، الدواء المضاد للالتهاب غير الستيرويدي (NSAID)، الأكسيجيناز الحلقية في كل من PGHS –1 و PGHS –2 وذلك عن طريق الأستلة. كما أن معظم الأدوية الأخرى المضادة للالتهاب غير الستيرويدية، مثل الإندوميثاسين والإيبوبروفين، تثبط الأكسيجيناز الحلقية عن طريق التنافس مع الأراكيدونات. ويتثبط إنتاج PGHS–2 – وليس PGHS–1– بشكل كامل بالستيرويدات القشرية المضادة للالتهاب.

هناك علاقة متبادلة بين فعالية الأحماض الدهنية الضرورية وإنتاج البروستاجلاندينات:

على الرغم من وجود علاقة واضحة بين فاعلية الحمض الدهني الضروري (الأساسي) لمختلف أنواع الأحماض الدهنية وقدرتها على التحول إلى البروستاجلاندينات، فإنه لا يبدو أن الأحماض الدهنية الضرورية تظهر كامل تأثيراتها الفيزيولوجية عن طريق تخليق البروستاجلاندينات. الجدير ذكره هنا أن دور الأحماض الدهنية الضرورية في تشكيل الأغشية غير متعلق بتشكيل البروستاجلاندينات. ولا تُلطف البروستاجلاندينات من أعراض عوز الأحماض الدهنية الضرورية، كما أن متلازمة عوز الأحماض الدهنية الضرورية لا تنتج عن التثبيط المزمن لتخليق البروستاجلاندينات.



الشكل 7-25 : تحول حمض الأراكيدونيك إلى البروستاجلاندينات والثرومبوكسانات من المجموعة 2.
(PG: بروستاجلاندين؛ TX: ثرومبوكسان؛ PGI:بروستاسيكلين؛ HHT:هيدروكسي هبتاديكاثلاثي إينوات.) (عند النجمة: أي أن كلاً من هاتين الفاعليتين عائدتين لإنزيم واحد هو سنتاز البروستاجلاندين H. تجري تحولات شبيهة لهذه في البروستاجلاندينات والثرومبوكسانات من السلسلتين 1 و3).

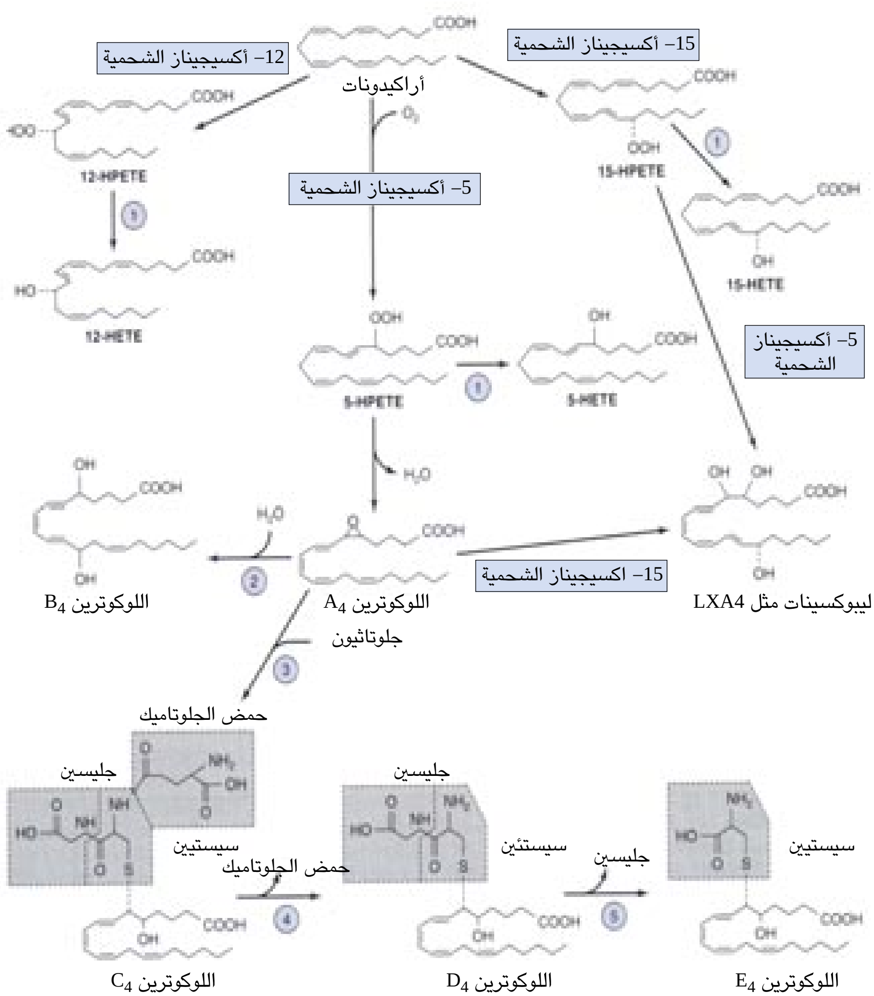
إن الأكسيجيناز الحلقي إنزيم انتحاري:

يتحقق إيقاف تشكيل البروستاجلاندينات جزئياً عن طريق الخاصية غير العادية للأكسيجيناز الحلقي ـ وهي أنه يتخرب بتحفيز ذاتي، أي أنه «إنزيم انتحاري». ويجري إبطال فاعلية البروستاجلاندينات حالما تتشكل سريعاً. حيث أن وجود إنزيم نازعة هيدروجين 15– هيدروكسي البروستاجلاندين في أغلب أنسجة الثدييات هو السبب الرئيسي على الأرجح. وبمحاصرة تأثير هذا الإنزيم بالسلفاسالازين أو بالإندوميثاسين يمكن إطالة العمر النصفي للبروستاجلاندينات في الجسم.

تتشكل اللوكوترينات والليبوكسينات في سبيل الأكسيجيناز الشحمية:

اللوكوترينات في فصيلة من الترييئينات (Trienes)المقترنة المتشكلة من الأحماض الأيكوزانوكية في الكريات البيضاء وأورام الخلايا البدينة (Mastocytoma) والصفيحات والبلاعم وذلك في سبيل الأكسيجيناز الشحمية (Lipoxygenase)، استجابةً لكل من التنبيه المناعي وغير المناعي (الشكل 25-8). وهناك ثلاث إنزيمات مختلفة من الأكسيجينازات الشحمية (الأكسيجينازات الثنائية) تقوم بدمج الأكسجين في المواقع 5 و 12 و 15 من حمض الأراكيدونيك فتتشكل الهيدروبيروكسيدات (HPETE). إنزيم واحد منها فقط هو الأكسيجيناز الشحمي – 5 يشكل اللوكوترينات. حيث يتشكل أولاً اللوكوترين A_4، الذي يتأيض بدوره إما إلى اللوكوترين B_4 أو إلى اللوكوترين C_4. ويتشكل اللوكوترين C_4 بإضافة ببتيد الجلوتاثيون عن طريق الرابطة الثيوإثيرية. ويجري فيما بعد حذف الجلوتامات والجليسين مما يولد اللوكوترين C_4 واللوكوترين E_4 على الترتيب.

أما الليبوكسينات فهي فصيلة من الترائينات المقترنة التي تتشكل أيضاً في الكريات البيضاء، وذلك نتيجة تأثير مشترك لأكثر من إنزيم أكسيجيناز شحمي واحد، والتي تدمج المزيد من الأكسجين في الجزيء. ويتشكل العديد من الليبوكسينات (من LXA4 إلى LXE4) بأسلوب مشابه لذلك الموصوف آنفاً بالنسبة للوكوترينات.



الشكل 8-25 :تحول حمض الأراكيدونيك إلى اللوكوترينات والليبوكسينات من السلسلة 4 عن طريق سبيل الأكسيجيناز الشحمية. تجري بعض التحولات المشابهة في السلسلتين 3 و5 من اللوكوترينات. (HPETE: هيدروبيروكسي إيكوزا رُباعي إينوات؛ HETE: هيدروكسي إيكوسا رباعي إينوات.) ((1): بيروكسيداز؛ (2): هيدرولاز إيبوكسيد اللوكوترين A_4؛ (3): ناقلة -Sجلوتاثيون؛ (4): γ- جلوتاميل ترانسببتيداز؛ (5): ببتيداز ثنائي سيستينيل ـ جليسين).

المظاهر السريرية:

يبدي البشر أعراضاً أيضاً عندما يكون هناك عوز في الأحماض الدهنية الضرورية:

لوحظت أعراض جلدية وتضرر في نقل الشحميات عند الأفراد الذين يتناولون غذاءا خالياً من الأحماض الدهنية الضرورية. أما عند البالغين المتغذين طعاماً عادياً فلم تسجل أية علامات لحالات عوز الأحماض الدهنية الضرورية. إلا أن الأطفال الذين يتلقون غذاء بديلاً فقيراً بالشحوم تنشأ لديهم أعراض جلدية كانت تختفي وتشفى عند إعطائهم اللينوليات. وتعزى حالات العوز إلى فقدان الأحماض الدهنية الضرورية من ضمنها حمض α – اللينولينيك. ويحدث هذا أيضاً بين المرضى الموضوعين لفترة طويلة وحصرياً على التغذية داخل الوريدية الفقيرة بالأحماض الدهنية الضرورية. ويمكن منع حدوث هذا العوز بتوفير مدخول من الأحماض الدهنية الضرورية يبلغ 1-2٪ من الحاجة السعرات الحرارية الإجمالية.

يجري الأيض غير السوي للأحماض الدهنية الضرورية في أمراض متعددة:

بغض النظر عن عوز الأحماض الدهنية الضرورية وتبدلات نماذج الأحماض الدهنية اللامشبعة في سوء التغذية المزمن، فقد لوحظ أيض غير سوي للأحماض الدهنية الضرورية، والذي قد يكون مرتبطاً مع عدم كفاية غذائية، وذلك في كل من التليف الكيسي والتهاب جلد الأطراف االناجم عن التهاب الأمعاء (Acrodermatitis enteropathica) والمتلازمة الكبدية الكلوية ومتلازمة شوجرن ـ لارسون والتنكس العصبوني متعدد الأجهزة وداء كرون وتليف الكبد والكحولية ومتلازمة راي (Reye) وقد وجدت مستويات مرتفعة من الأحماض متعددة الروابط المضاعفة ذات السلسلة الطويلة جداً في دماغ المرضي بمتلازمة زيلويجر (الفصل 24).

ويخفض الغذاء الذي يحوي نسبة مرتفعة من P:S (أي نسبة الأحماض الدهنية اللامشبعة إلى المشبعة) مستويات الكوليسترول في المصل، وبخاصة في البروتينات

الشحمية خفيضة الكثافة (LDL). وينظر إلى ذلك بأهمية بالغة كونه مفيداً بالنسبة للعلاقة القائمة بين مستوى كوليسترول المصل والداء القلبي الإكليلي.

البروستانويدات هي مركبات قوية وفعالة حيوياً:

يتم تخليق الثرومبوكسانات (Thromboxanes) في الصفيحات، وهي تسبب عند إطلاقها تضيق الأوعية وتكدس الصفيحات. ويتثبط تخليقها نوعياً بجرعات منخفضة من الأسبرين. وتُنتَجْ البروستاسيكلينات (PGI2) في جدران الأوعية الدموية وهي مثبطات قوية لتكدس الصفيحات. لذلك تعد الثرومبوكسانات والبروستاسيكلينات ضواد (مناهضات) (Antagonistic). ويعزى العدد المنخفض من الإصابات القلبية ونقص تكدس الصفيحات وامتداد أزمان التخثر عند شعوب الإسكيمو في جزيرة جرينلند (Greenland). إلى مدخولهم العالي من زيوت الأسماك حاوية الأحماض الدهنية 20:5 ω3 (EPA، أو حمض الأيكوزابنتاإينويك)، والتي تبعث على تشكل سلاسل البروستاجلاندينات 3 (PG3) والثرومبوكسانات TX3 (الشكل 25-6). ويثبط كل من PG_3 و TX_3 تحرير الأراكيدونات من الشحميات الفسفورية وكذلك. تشكل الـ PG_2 و TX_2. ويعد PGI_3 مضاداً قوياً لتكدس الصفيحات مثله مثل PGI_2، أما TXA_3 فهو مكدس أضعف للصفيحات من TXA_2، لذلك فإن توازن الفاعلية يكون منزاحاً نحو عدم تكدس الصفيحات. إضافة إلى ذلك، تكون التراكيز البلازمية لكل من الكوليسترول وثلاثي أسيل الجليسرول والبروتينات الشحمية خفيضة ووضيعة الكثافة منخفضة عند الإسكيمو، في حين يكون تركيز البروتين الشحمي رفيع الكثافة مرتفعاً عندهم، وكل هذه العوامل تعمل ضد التصلب العصيدي واحتشاء العضلة القلبية.

يسبب مقدار من البروستاجلاندينات لا يتعدى 1 نانو جرام/مل تقلصاً في العضلات الملساء عند الحيوانات. وتتضمن الاستخدامات العلاجية الممكنة منع الإخصاب وتحريض الولادة في أوانها، وإنهاء الحمل والوقاية من القرحات المعدية أو تخفيفها والسيطرة على الالتهابات والتحكم بضغط الدم وتخفيف الربو واحتقان الأنف.

تسبب البروستاجلاندينات ازدياد cAMP في كل من الصفيحات والغدة الدرقية والجسم الأصفر والعظم الجنيني والنخامى الغدية والرئة، لكنها تخفض الـ cAMP في خلايا النبيبات الكلوية والنسيج الدهني (الفصل 27).

اللوكوترينات والليبوكسينات منظِّمات قوية للعديد من العمليات المرضية:

إن المادة التي تتفاعل ببطء في التأق (SRS-A) (Anaphylais) هي في الواقع مزيج من اللوكوترينات C_4 وD_4 وE_4. ويكون هذا المزيج من اللوكوترينات أقوى بنحو 100-1000 مرة من الهيستامين أو البروستاجلاندينات بالنسبة لفعله كمضيق لعضلات المسلك الهوائي القصبي. وتسبب هذه اللوكوترينات أيضاً، إلى جانب اللوكوترين B_4، النفوذية الوعائية وجذباً وتنشيطاً للكريات البيضاء، كما اتضح أنها منظمات مهمة في العديد من الأمراض من بينها الالتهابات أو تفاعلات فرط التحسس المباشرة، كما في الربو. واللوكوترينات مركبات فعالة في الأوعية، وقد وجد 5– ليبوكسيجيناز في جدران الشرايين.

وتدعم الأدلة المتوافرة دور الليبوكسينات في تأثيرها الفعال في الأوعية وفي وظيفتها المنظمة للمناعة، كمركبات التنظيم المعاكس (الكالونات Chalones) للاستجابة المناعية.

الخلاصة:

1 – ينجز التخليق الحيوي للأحماض الدهنية طويلة السلسلة اللامشبعة عن طريق مجموعة من الإنزيمات نازعة الإشباع، التي تُدخل روابط مضاعفة، وبإنزيمات الإطالة التي تطيل سلاسل الأسيل الموجودة بمقدار ذرتي كربون في كل مرة.

2 – يوجد في الحيوانات العليا إنزيمات نازعة الإشباع Δ^9 وΔ^6 و Δ^5 وΔ^4 فقط وهي لا تسمح بانغراز روابط مضاعفة جديدة وراء الموضع 9 من الأحماض الدهنية. وبالنتيجة فإنه لا يمكن تخليق أحماض اللينولييك (ω6) و α لينولينيك (ω3)، لذا يجب تأمينها في الغذاء. وهي تسمى الأحماض الدهنية الضرورية.

3 – تبعث الأحماض الدهنية الضرورية على تشكيل الأحماض الدهنية C_{20} (الأيكوزايكية) والتي يجري منها تخليق زمر مهمة جداً من المركبات الفعالة فيزيولوجياً ودوائياً، هي الإيكوزانويدات. وهي تضم البروستاجلاندينات والثرومبوكسانات واللوكوترينات والليبوكسينات. ويتم تخليق البروستاجلاندينات والثرومبوكسانات في سبيل الأكسيجيناز الحلقية (الذي يتثبط بالأسبرين)؛ أما اللوكوترينات والليبوكسينات فيتم تخليقها في سبيل الليبوكسيجيناز (الأكسيجيناز الشحمية).

4 – نظراً لأن زمراً مختلفة من الإيكوزانويدات يتم تخليقها من الأحماض الدهنية الضرورية، فإنه يمكن منابلة (التلاعب في) التوازن بين التأثيرات الفيزيولوجية للإيكوزانويدات المختلفة عن طريق تغيير تركيب الأحماض الدهنية في الغذاء.

***References:**

Brenner RR: Endocrine control of fatty acid desaturation. *Biochem Soc Trans* 1990;13:773.

Fischer S: Dietary polyunsaturated fatty acids and eicosanoid formation in humans. *Adv Lipid Res* 1989;23: 169.

Khosla P, Hayes KC: Dietary trans-monounsaturated fatty acids negatively impact plasma lipids in humans: *Critical review of the evidence. J Am Coll Nutrit* 1996; 15:325.

Kinsella JE, Lokesh B, Stone RA: Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: Possible mechanisms. *Am J Clin Nutr* 1990;52: 1.

Lagarde M, Gualde N, Rigaud M: Metabolic interactions between eicosanoids in blood and vascular cells. *Biochem* J 1989;257:313.

Neuringer M, Anderson GJ, Connor WE: The essentiality of n-3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. *Annu Rev Nutr* 193X;~:517.

Serhan CN: Lipoxin biosynthesis and its impact in inflammatory and vascular events. *Biochim Biophys Acta* 1994;1212:1.

Smith WL, Fitzpatrick FA: The eicosanoids: Cyclooxygenase, lipoxygenase, and epoxygenase pathways. In: *Biochemistr of Lipids, Lipoproteins and Membranes.* Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 1996.

الفصل السادس والعشرون

أيض جليسرولات الأسيل والشحميات السفنجولية

Metabolism of Acylgycerols and Sphingolipids

مقدمة:

تشكل جليسرولات الأسيل الجزء الأكبر من الشحميات في الجسم. والجليسرولات ثلاثية الأسيل هي الشحميات الرئيسية في الترسبات الدهنية وفي الطعام. بالإضافة إلى أن جليسرولات الأسيل، وبخاصة الشحميات الفسفورية، هي المركبات الرئيسية في الأغشية البلازمية وسواها من الأغشية. وتلعب الشحميات الفسفورية دوراً أيضاً في أيض شحميات عديدة أخرى. وتكون الشحميات السفنجولية السكرية، التي تحوي السفنجوزين وثمالات سكرية وأيضاً أحماض دهنية، مسؤولة عن نحو 5-10٪ من الشحميات في الغشاء البلازمي.

الأهمية الطبية البيولوجية:

سنناقش بمزيد من التفصيل في الفصول التالية دور ثلاثي أسيل الجليسرول (أو الجليسرول ثلاثي الأسيل) في كل من نقل الشحميات وتخزينها وفي أمراض

متعددة كالبدانة والداء السكري وفرط البروتينات الشحمية في الدم. إن الفسفوجليسرولات والشحميات السفنجولية الفسفورية والشحميات السفنجولية السكرية كلها مركبات متقابلة الزمر (أمفيباتية) فهي بالتالي مناسبة تماماً لأن تكون المقومات الشحمية الرئيسية في الأغشية البيولوجية (الحيوية). وتتمتع بعض الشحميات الفسفورية بوظائف متخصصة، فعلى سبيل المثال؛ الليسيثين ثنائي البلميتويل هو المكون الرئيسي للفعالية السطحية في الرئة، ويكون فقدانه عند الأطفال الخدج مسؤولاً عن متلازمة الضائقة التنفسية عند الولدان. وتعمل الشحميات الفسفورية الإينوزيتولية في الغشاء الخلوي كطلائع للمراسيل الثانوية (الثانية) للهرمونات، وإن عامل تنشيط الصفيحات هو شحم فسفوري ألكيلي. وتشكل الشحميات السفنجولية السكرية، الموجودة في الوريقة الخارجية للغشاء البلازمي وتكون سلاسلها قليلة السكريد بارزة للخارج، جزءاً من الكنان السكري (Glycocalyx) للسطح الخلوي وهي مهمة (1) في التواصل والتماس بين الخلايا و (2) كمستقبلات للذيفانات الجرثومية (مثل الذيفان الذي يسبب الكوليرا)؛ و (3) كمواد للزمر الدموية ABO. لقد تم وصف إثنى عشر أو ما يقارب ذلك من أمراض تخزين الشحميات السكرية (مثل داء جوشيه Gaucher وداء تاي ـ زاكس)، كل منها ناجم عن عوز نوعي في إنزيم هيدرولاز في سبيل تقويض الشحميات السكرية في الجسيمات الحالة «اليحلولات».

إن تقويض جليسرولات الأسيل ليس عكساً للتخليق الحيوي:

الحلمهة هي بداية تقويض جليسرولات الأسيل:

يجب أن تتحلمه الجليسرولات ثلاثية الأسيل بإنزيم ليباز مناسب لتعطي أحماضها الدهنية المؤلفة لها والجليسرول قبل بدء التقويض اللاحق. وتجري معظم هذه الحلمهة (تحلل الشحم) في النسيج الشحمي مع تحرير أحماض دهنية حرة إلى البلازما، حيث توجد وهي متحدة مع ألبومين المصل. ويلي ذلك قبط الأحماض الدهنية الحرة للأنسجة وحدوث أكسدة تالية أو إعادة أسترة. ويتمتع العديد من الأنسجة (بما فيها الكبد والقلب والكلية والعضلات والرئة والخصيتين ومخ

والنسيج الشحمي) بقدرة على أكسدة الأحماض الدهنية طويلة السلسلة، مع أن الدماغ لا يستطيع استخلاصها بسرعة وبسهولة من الدم. ويتوقف استعمال الجليسرول على امتلاك مثل هذه الأنسجة لإنزيم التنشيط الضروري وهو كيناز الجليسرول (Glycerol kinase). ويوجد هذا الإنزيم بكميات معتبرة في الكبد والكلية والمعى والنسيج الشحمي الأسمر وغدة الثدي المرضعة.

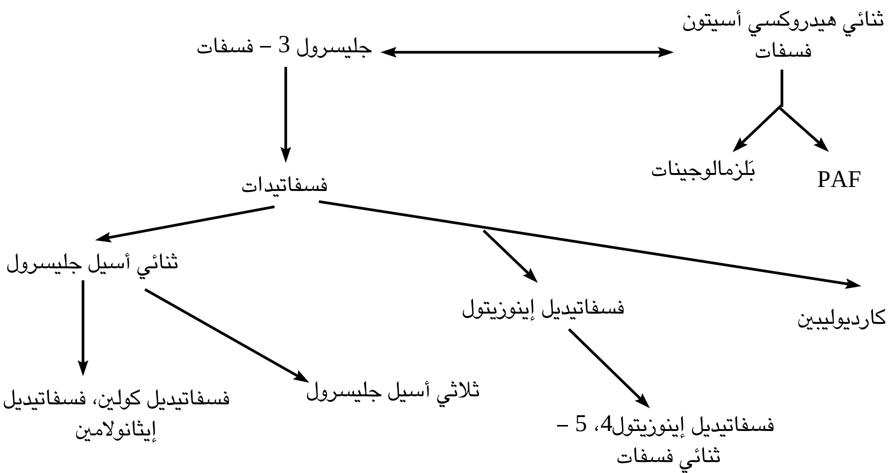
تتشكل الجليسرولات ثلاثية الأسيل وفسفوجليسرولات بأسيلة فسفات التريوز:

يبين (الشكل 26-1) السبل الرئيسة للتخليق الحيوي لكل من الجليسرول ثلاثي الأسيل وفسفوالجليسرول. وتتشكل مواد عديدة مهمة بدءاً من الجليسرول 3–فسفات، يلعب كل منها أدواراً حياتية في الأيض الخلوي. وهي تتراوح من المخازن الرئيسة للجليسرول ثلاثي الأسيل إلى المشتقات الفسفاتيديلية لكل من الكولين والإيثانولامين والإينوزيتول والكارديوليبين، وهو مقوم في الأغشية المتقدرية. وتوجد نقطتا تفرع مهمتان في السبل عند الخطوتين المتوسطتين للفسفاتيدات والجليسرول ثنائي الأسيل. وتشتق فسفوالجليسرولات من ثنائي هيدروكسي أسيتون فسفات، وهي تحوي رابطة إيثيرية – (C-O-C-)، وأكثرها شهرة البلازمالوجينات وعامل تنشيط الصفيحات (PAF). ويلاحظ أن الجليسرول 3–فسفات أو ثنائي هيدروكسي أسيتون فسفات يشتقان من سبيل تحلل السكر أو أنهما عناصر فيه، مما يشير إلى الارتباط المهم جداً بين أيض السكريات والشحميات.

الفسفاتيدات هي الطليعة المشتركة في التخليق الحيوي للجليسرولات ثلاثية الأسيل وللعديد من فسفوالجليسرولات والكارديوليبين:

على الرغم من أن التفاعلات، التي تتضمن حلمهة الجليسرولات ثلاثية الأسيل

بوساطة الليباز، يمكن عكسها في المختبر، لكنها ليست الآلية التي يتم من خلالها تخليق جليسرولات الأسيل في الأنسجة. حيث يجب تنشيط كل من الجليسرول والأحماض الدهنية على حد سواء بوساطة الـATP قبل أن يتمكنا من الانجبال في جليسرولات الأسيل. وسوف يحفز كيناز الجليسرول تنشيط الجليسرول إلى sn – جليسرول 3 –فسفات. وإذا فُقد هذا الإنزيم ـ أو انخفضت فاعليته، كما هو في العضلات أو النسيج الشحمي ـ فإن أغلب الجليسرول 3– فسفات يجب أن يشتق من متوسط جملة تحلل السكر، أي من ثنائي هيدروكسي أسيتون فسفات، التي تشكل الجليسرول 3 –فسفات بالإرجاع بوجود NADH وبتحفيز نازعة هيدروجين جليسرول 3–فسفات (الشكل 26-2).



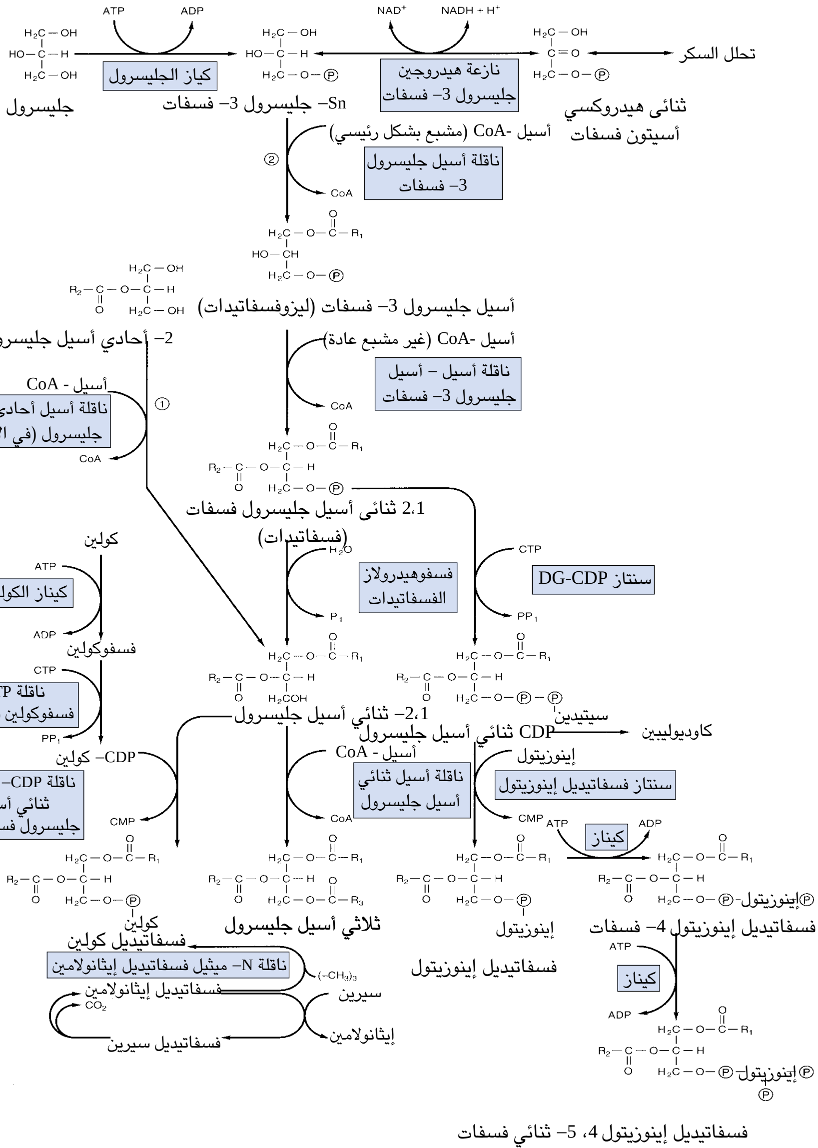
الشكل 26-1 : نظرة شاملة على التخليق الحيوي لأسيل الجليسرول. (PAF: عامل التنشيط الصفيحي).

1 – التخليق الحيوي للجليسرولات ثلاثية الأسيل: تنشط الأحماض الدهنية إلى الأسيل -CoA بوساطة إنزيم سنتاز أسيل-CoA، باستعمال الـ ATP و CoA (الفصل 24). ويتحد جزيئان من أسيل -CoA مع الجليسرول 3 –فسفات لتشكيل

الفسفاتيدات (2،1– ثنائي أسيل جليسرول فسفات). ويجري ذلك في مرحلتين عن طريق الليزوفسفاتيدات، ويحفز أولاً بناقلة أسيل جليسرول –3– فسفات ومن ثم بناقلة أسيل 1–أسيل جليسرول –3– فسفات. وتتحول الفسفاتيدات بوساطة فسفوهيدرولاز الفسفاتيدات إلى 2،1–ثنائي أسيل الجليسرول. ويؤستر جزيء إضافي من أسيل -CoA مع ثنائي أسيل الجليسرول ليتشكل ثلاثي أسيل الجليسرول (الجليسرول ثلاثي الأسيل)، بتحفيز ناقلة أسيل ثنائي أسيل الجليسرول. ويوجد في المخاطية المعوية سبيل أحادي أسيل الجليسرول الذي يتم به تحويل أحادي أسيل الجليسرول (Monoacylglycerol) إلى 2،1–ثنائي أسيل الجليسرول كنتيجة لوجود ناقلة أسيل أحادي أسيل الجليسرول. وتتوضع معظم فاعلية هذه الإنزيمات في الشبكة الهيولية الباطنية بالخلية، لكن يوجد بعض منها في المتقدرات، كناقلة أسيل الجليسرول –3– فسفات. ويوجد فسفوهيدرولاز الفسفاتيدات بشكل رئيسي في العصارة الخلوية، لكن يكون الشكل الفعّال من الإنزيم مرتبطاً بالغشاء.

2 – التخليق الحيوي للفسفوجليسرولات: يتم تخليق هذه الشحميات الفسفورية إما من الفسفاتيدات، كفسفاتيديل الإينوزيتول، أو من 2،1 –ثنائي أسيل الجليسرول، مثل فسفاتيديل الكولين وفسفاتيديل الإيثانولامين. حيث أنه في سبيل تخليق فسفاتيديل الإينوزيتول، يتفاعل ثلاثي فسفات السيتيدين (CTP)، وهي فسفات عالية الطاقة تتشكل من الـ ATP (الفصل 12)، مع الفسفاتيدات ليتشكل سيتيدين ـ ثنائي فسفات ـ ثنائي أسيل جليسرول (CDP- DG). ويتفاعل هذا المركب في النهاية مع الإينوزيتول بتحفيز إنزيم سنتاز فسفاتيديل الإينوزيتول، فيتشكل فسفاتيديل الإينوزيتول (الشكل 26-2).

ويتحول فسفاتيديل الإينوزيتول بفعل الفسفتة المتتالية أولاً إلى فسفاتيديل الإينوزيتول 4 – فسفات ثم إلى فسفاتيديل الإينوزيتول 4، 5– ثنائي الفسفات. حيث يتحطم هذا الأخير إلى ثنائي أسيل الجليسرول والإينوزيتول ثلاثي الفسفات بوساطة الهرمونات التي ترفع تركيز الكالسيوم [Ca^{2+}] مثل الفازوبريسين (Vasopressin). ويعمل هذان الناتجان كمراسيل ثانوية في آلية العمل الهرموني (الفصل 44).



الشكل 26-2 : التخليق الحيوي لثلاثي أسيل جليسرول والشحميات الفسفورية.
(1): سبيل أحادي أسيل جليسرول.(2): سبيل جليسرول فسفات. قد تتشكل فسفاتيديل إيثانولامين من الإيثانولامين بوساطة سبيل مشابه لذلك المبين في تشكيل فسفاتيديل الكولين من الكولين.

في التخليق الحيوي لفسفاتيديل الكولين وفسفاتيديل الإيثانولامين (الليسيثينات والسيفالينات)، يجب أن يتحول الكولين أو الإيثانولامين أولاً إلى «الكولين الفعال» أو «الإيثانولامين الفعال» على الترتيب. وهي عملية من مرحلتين تتضمن أولاً: تفاعلاً مع الـ ATP لتشكيل أحادي فسفات موافق، ويلي ذلك تفاعل آخر مع CTP لتشكيل إما السيتيدين ثنائي فسفوالكولين (كولين -CDP) أو السيتيدين ثنائي فسفوالإيثانولامين (إيثانولامين -CDP) وفي هذا الشكل، يتفاعل الكولين أو الإيثانولامين مع 2،1– ثنائي أسيل جليسرول بحيث ينتقل الأساس المفسفت (إما فسفوالكولين أو فسفوالإيثانولامين) إلى ثنائي أسيل الجليسرول ليتشكل إما فسفاتيديل الكولين أو فسفاتيديل الإيثانولامين على التوالي. ويبدو أن ناقلة السيتيديل هي الإنزيم المنظم لسبيل فسفاتيديل الكولين.

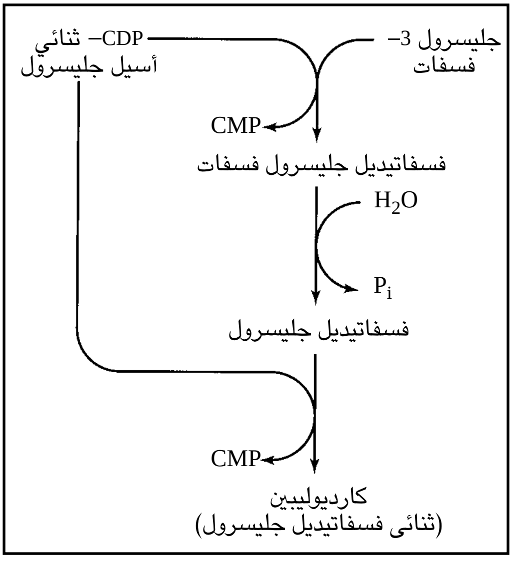
يتشكل فسفاتيديل السيرين مباشرة من فسفاتيديل الإيثانولامين بالتفاعل مع السيرين (الشكل 26-2). وقد يعيد فسفاتيديل السيرين تشكيل فسفاتيديل الإيثانولامين بنزع الكربوكسيل. ويوجد في الكبد سبيل بديل يمكن فسفاتيديل الإيثانولامين من أن يعطي مباشرة فسفاتيديل الكولين عن طريق المثيَّلة المتعاقبة لثمالة الإيثانولامين باستعمال S- أدينوزيل ميثيونين كمانح للميثيل. وتبعاً لذلك، يمكن أن تشتق زمرة الميثيل في الميثيونين من ميثيل – H4 فولات (الشكل 25-15). ورغم مصادر الكولين هذه، فهو يعد مغذياًضرورياً عند العديد من أنواع الثدييات، لكن لم يثبت ذلك عند الإنسان.

يجري تنظيم التخليق الحيوي لكل من ثلاثي أسيل الجليسرول وفسفاتيديل الكولين وفسفاتيديل الإيثانولامين بشكل نشيط بتوافر الأحماض الدهنية الحرة. أما تلك التي تتملص من الأكسدة فهي تتحول بشكل أفضل إلى الشحميات الفسفورية، وعندما تفي هذه الحاجة فإن الأحماض الدهنية الفائضة تشكل ثلاثي أسيل الجليسرول.

يوجد شحم فسفوري في المتقدرات هو الكارديوليبين (Cardiolipin) ثنائي فسفاتيديل جليسرول؛ (الشكل 16-10). وهو يتشكل من فسفاتيديل الجليسرول، الذي يتخلق بدوره من كل من CDP– ثنائي أسيل الجليسرول (الشكل 26-2)

والجليسرول 3– فسفات حسب المخطط المعروض في (الشكل 26-3). والكارديوليبين الموجود في الغشاء المتقدري الداخلي ضروري بشكل نوعي لوظيفة ناقل الفسفات ولفاعلية أكسيداز السيتوكروم.

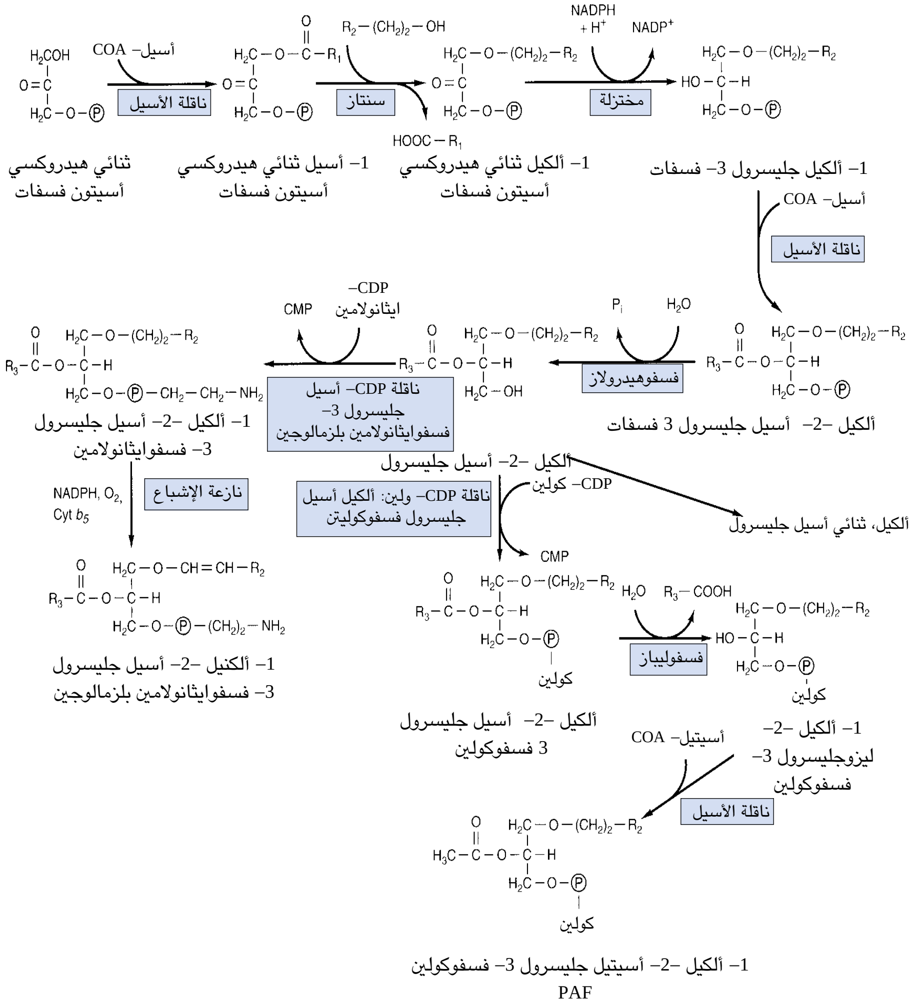
3 – التخليق الحيوي للشحميات الفسفورية الإيثيرية الجليسرولية: يبدو أن هذا السبيل يتوضع في الجسيمات البيروكسية حصراً. ويكون ثنائي هيدروكسي أسيتون فسفات هو طليقة الجزء الجليسرولي في الشحميات الفسفورية الإثيرية الجليسرولية (الشكل 26-4). ويتحد هذا المركب مع أسيل -CoA ليعطي 1–أسيل ثنائي هيدروكسي أسيتون فسفات. ويجري تفاعل تبادلي بين زمرة الأسيل وكحول طويل السلسلة ليعطي 1– ألكيل ثنائي هيدروكسي أسيتون فسفات (الذي يحوي رابطة إيثيرية)، الذي بوجود NADPH يتحول إلى 1–ألكيل جليسرول 3 – فسفات. وبعد حدوث أسيلة (Acylation) إضافية في الموضع2، يخضع الناتج 1– ألكيل –2– أسيل جليسرول 3–فسفات (مضاهئ الفسفاتيدات في الشكل 26-2) للحلمهة ليعطي المشتق الجليسرولي الحر. وتتشكل البلازمالوجينات (Plasmalogens) بإزالة إشباع المضاهئ المشتق 3–فسفوإيثانولامين (الشكل 26-4).



الشكل 26-3 : التخليق الحيوي للكارديوليبين.

ويتألف الكثير من الشحوم الفسفورية الموجودة في المتقدرات من البلازمالوجينات. يتم تخليق عامل تنشيط الصفيحات (PAF)، (Platelet-activating Factor) من المشتق 3–فسفوكولين الموافق وقد تم تحديده كـ 1–ألكيل –2– أسيتيل – sn– جليسرول –3– فسفوكولين. وهو يتشكل في العديد من الخلايا الدموية وفي أنسجة أخرى وهو يكدس الصفيحات عند التراكيز الأخفض من 10-11– جزئي/ل.

وهو يمتلك أيضاً خواصاً خافضة للضغط ومولدة للقرحة ويشترك في العديد من الاستجابات البيولوجية منها الالتهاب والانجذاب الكيميائي وفسفتة البروتينات.



الشكل 4-26 : التخليق الحيوي للشحميات الإيثيرية، بما فيها البلزمالوجينات وعامل التنشيط الصفيحي (PAF). يجري انجبال أسيتيل -CoA في مرحلة النجمة من سبيل تخليق الـ «PAF من جديد» متجاوزاً بذلك خطوتين على الأقل من السبيل المعروض هنا.

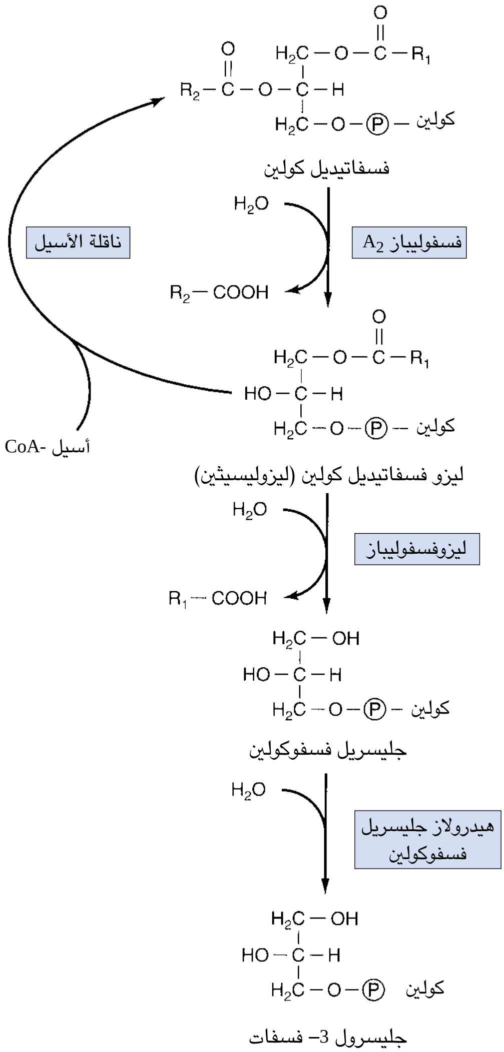
تسمح إنزيمات الفسفوليباز بتدرك الفسفوجليسرولات وإعادة تشكيلها:

يتواصل تدرك العديد من الجزيئات المعقدة في الأنسجة بشكل تام، مثل البروتين إلى الأحماض الأمينية. لذلك فإنه يمكن تحديد زمن التحول (التقلب: Turnover) لمثل هذا الجزيء. وعلى الرغم من أن الشحميات الفسفورية تتدرك بشكل ناشط وسريع، فإن كل قسم من الجزيء يتحول (ينقلب) بسرعة ومعدل مختلف عن الآخر، فزمن تحول زمرة الفسفات مختلف عن زمن تحول زمرة 1– أسيل. وينتج ذلك عن وجود الإنزيمات التي تسمح بالتدرك الجزئي المتبوع بإعادة التخليق (الشكل 26-5).

يحفز الفسفوليباز A_2 حلمهة الرابطة الإسترية في الموقع 2 من الشحوم الفسفوجليسرولية ليتشكل حمض دهني حر وليزو الشحم الفسفوري (ليزوفسفوليبيد)، الذي بدوره قد تعاد أسيلته بأسيل -CoA بوجود ناقلة الأسيل. وبالمقابل يخضع الليزوفسفوليبيد (مثل الليزوليسيثين) لهجوم ليزوفسفوليباز الذي ينزع زمرة 1–أسيل المتبقية فيتشكل أساس فسفوريل الجليسريل الموافق، الذي قد ينشطر دوره بوساطة الهيدرولاز محرراً جليسرول 3–فسفات وأساس. ويهاجم الفسفوليباز A_1 الرابطة الأسترية في الموضع 1، في حين يهاجم الفسفوليباز A_2 الرابطة في الموضع 2 من الشحوم الفسفورية (الشكل 26-6). وهو يوجد في العصارة البنكرياسية وفي سمّ الأفاعي وكذلك في أنماط عديدة من الخلايا. أما الفسفوليباز B فهو يحلمه كلا زمرتي الأسيل. ويهاجم الفسفوليباز C الرابطة الإسترية في الموضع 3، محرراً 1، 2– ثنائي أسيل جليسرول إضافة لأساس الفسفوريل. وهذا الإنزيم واحد من الذيفانات (Toxins) الرئيسية التي تفرزها الجراثيم. لقد كان من المعروف أن إنزيم الفسفوليباز D يتواجد بشكل رئيس في النباتات، وهو يحلمه الأساس النتروجيني من الشحميات الفسفورية، لكن أصبح الآن معروفاً أنه يساهم في التنبيغ الإشاري لدى الثدييات.

قد يتشكل الليزوليسيثين (Lysolecithin)، أو ليزوفسفاتيديل كولين بوساطة طريق بديل يتضمن ناقلة أسيل ليسيتين: كوليسترول (LCAT). ويوجد هذا الإنزيم في البلازما ويتم تخليقه في الكبد، وهو يحفز نقل ثمالة حمض دهني من الموضع 2

بالليسيتين إلى الكوليسترول لتشكيل إستر الكولسترل، ويعد مسؤولاً عن الكثير من إسترات الكولسترل الموجودة في البروتينات الشحمية البلازمية. ويبين (الجدول 1-28) عواقب عوز LCAT.

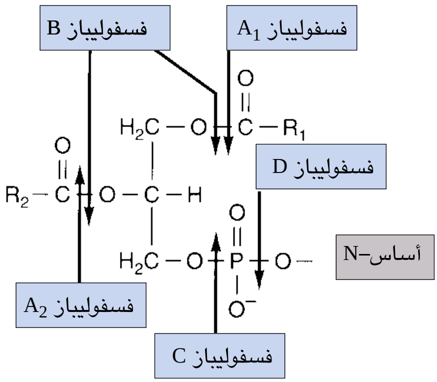


الشكل 5-26 : أيض فسفاتيديل كولين (ليسيثين)

ناقلة أسيل ليسيثين: كوليسترول

ليسيثين + كوليسترول + ← ليزوليسيثين + إستر الكوليستريل

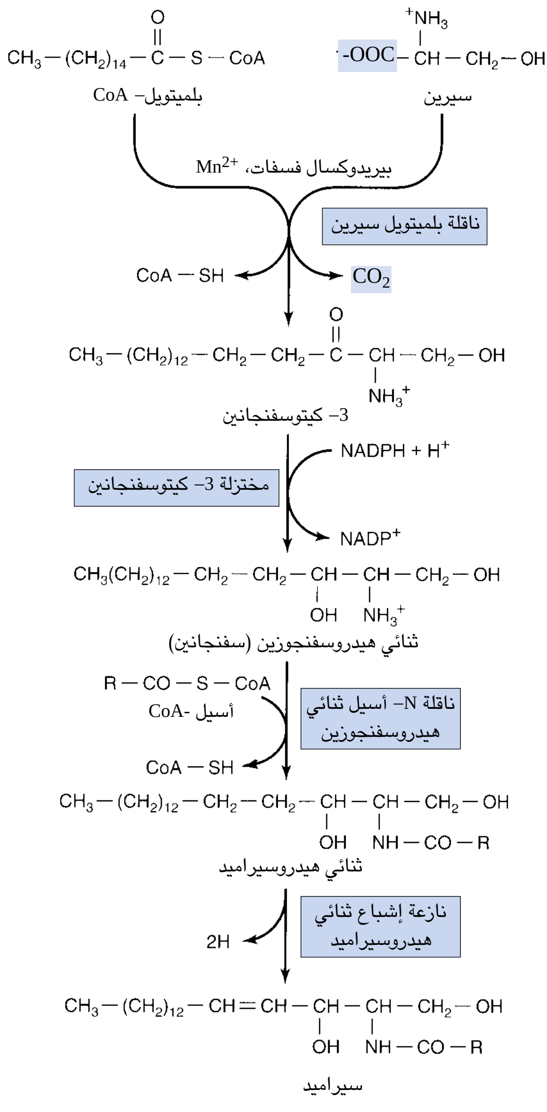
توجد الأحماض الدهنية المشبعة طويلة السلسلة بشكل سائد في الموضع 1 من الشحميات الفسفورية، في حين تنجبل الأحماض متعددة اللاإشباع (مثل طلائع البروستاجلاندينات) أكثر في الموقع 2. ويجري انجبال الأحماض الدهنية ضمن الليسيثين بالتخليق التام للشحم الفسفوري، عن طريق نقل الأسيل بين إسترالكولستريل والليزوليسيثين، وعن طريق الأسيلة المباشرة لليزوليسيثين بأسيل CoA-. بذلك فالتبادل المستمر للأحماض الدهنية هو أمر ممكن، بخاصة فيما يتعلق بإدخال أحماض دهنية ضرورية (أساسية) لجزيئات الشحم الفسفوري.



الشكل 26-6 : مقرات الفاعلية الملحمهة لإنزيمات الفسفوليباز على الركيزة «شحم فسفوري».

تتشكل جميع الشحميات السفنجولية من السيراميد:

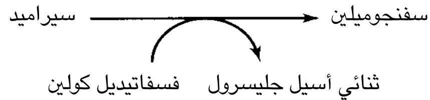
يتم تخليق السيراميد (Ceramide) (الشكل 26-7) في الشبكة الهيولية الباطنية. حيث يجري أولاً اتحاد الحمض الأميني السيرين بعد أن يتم تنشيطه بارتباطه مع فسفات البيريدوكسال، مع بلميتويل CoA- ليتشكل 3– كيتوسفنجانين. ثم يتحول هذا المركب إلى ثنائي هيدروسفنجوزين في خطوة إرجاعية باستخدام NADPH.



الشكل 7-26 : التخليق الحيوي للسيراميد.

ويتشكل ثنائي هيدروسيراميد بالارتباط مع أسيل -CoA ويلي ذلك نزع الإشباع لتشكيل السيراميد. ويوجد دليل على أن السيراميد قد يعمل كوسيط شحمي (مرسال ثانوي أو ثاني)، يقوم بتنشيط الكيناز البروتيني ومعاكساً بعض أفعال ثنائي أسيل الجليسرول (الفصل 44). ويتم غالباً تمثيل زمرة الأسيل بأحماض مشبعة طويلة السلسلة أو وحيدة الرابطة المضاعفة.

إن السفنجوميلينات (Sphingomyelins) (الشكل 16-17) شحميات فسفورية تنشأ عندما يتفاعل السيراميد مع فسفاتيديل الكولين ليتشكل سفنجوميلين مع ثنائي أسيل جليسرول (الشكل 26-8). وتجري هذه العملية بشكل رئيسي في جهاز جولجي وبدرجة أقل في الغشاء البلازمي. ويكون السفنجوميلين في العضيات المشتركة في عمليات الإفراز والالتقام (Endocytic)، محصوراً بالوجه اللمعي.



الشكل 26-8 : التخليق الحيوي للسفنجوميلين.

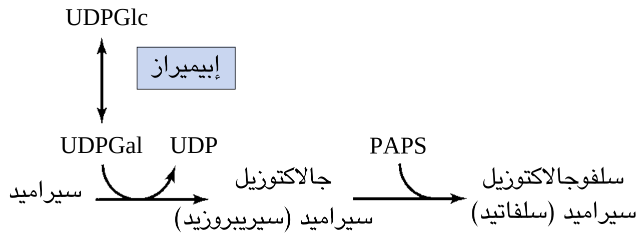
الشحميات السفنجولية السكرية هي اتحاد السيراميد مع واحدة أو أكثر من الثمالات السكرية:

توجد الأحماض الدهنية الحاوية 24 ذرة كربون على نحو مميز في العديد من الشحميات السفنجولية السكرية، بخاصة تلك الموجودة في الدماغ (أحماض اللجنوسيريك والسيريبرونيك والنرفونيك). حيث يتم تخليق حمض اللجنوسيريك ($C_{23}H_{47}COOH$) بشكل كامل من أسيتيل -CoA. أما حمض السيريبرونيك، وهو المشتق 2–هيدروكسي لحمض اللجنوسيريك، فيتشكل منه. ويتشكل حمض النرفونيك ($C_{23}H_{45}COOH$)، وهو حمض أحادي اللاإشباع، عن طريق إطالة حمض الأولييك.

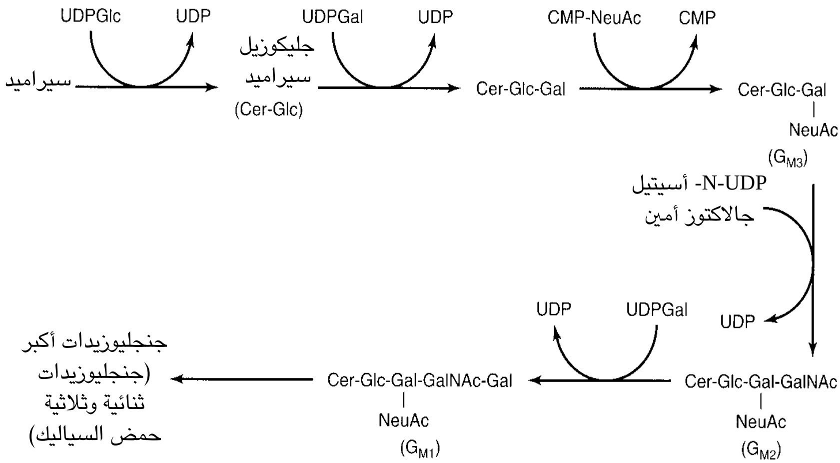
إن أبسط الشحميات السفنجولية السكرية (السيريبروزيدات Cerebrosides) هي جالاكتوزيل سيراميد (GalCer) وجلوكوزيل سيراميد (GlcCer). حيث يعد GalCer الشحم الرئيسي في الميلين (Myelin)، في حين أن GlcCer هو الشحم السفنجولي السكري الرئيسي في الأنسجة غير العصبية وهو طليعة لأغلب الشحميات السفنجولية السكرية الأكثر تعقيداً. يستخدم إنزيم إبيميراز اليوريدين ثنائي فسفوجالاكتوز (الشكل 26-9) اليوريدين ثنائي فسفوجلوكوز (UDPGLc) كركيزة وهو ينجز المصاوغة الإبيميرية للجلوكوز ليتحول إلى الجالاكتوز، فيتشكل بذلك اليوريدين ثنائي فسفات جالاكتوز (UDPGal). ويكون التفاعل في الدماغ مماثلاً لذلك الموصوف في (الشكل 22-6) والذي يحدث في الكبد وغدة الثدي. يتشكل جالاكتوزيل سيراميد بتفاعل بين السيراميد وUDPGal. ويتشكل سولفوجالاكتوزيل سيراميد بعد جريان تفاعل إضافي مع 3´–فسفوأدينوزين – 5´–فسفوسولفات (PAPS: السلفات أو الكبريتات الفعالة). ويشارك PAPS أيضاً في التخليق الحيوي لشحميات كبريتية أخرى، أي الشحميات السلفوجليسرولية أو الجالاكتوزية ومركبات السلفات الستيرويدية.

يتم تخليق الجنجليوزيدات من السيراميد بإضافة تدريجية لسكريات منشَّطة (مثل UDPGlc و UDPGal) ولحمض السياليك، يكون عادة حمض N- أسيتيل نورامينيك (الشكل 26-10). وبالتالي فإنه قد تتشكل أعداد كبيرة من الجنجليوزيدات بأوزان جزيئية متزايدة. وتوجد معظم الإنزيمات التي تنقل السكريات من السكريات النوكليوتيدية (ناقلة الجليكوزيل) في جهاز جولجي.

تعد الشحميات السفنجولية السكرية مقومات في الوريقة الخارجية للأغشية البلازمية وهذا في حد ذاته قد يكون مهماً في التواصل والتماس بين الخلايا. وبعض منها مستضدات، مثل مستضد فورسمان (Forssman) ومواد الزمر الدموية ABO. وتوجد سلاسل قليلة السكريد مشابهة في البروتينات السكرية بالغشاء البلازمي. وتعمل جنجليوزيدات معينة كمستقبلات للذيفانات الجرثومية (مثل تلك الخاصة بذيفان الكوليرا، الذي ينشط لاحقاً سيكلاز الأدينيليل).



الشكل 26-9 : التخليق الحيوي لجالاكتوزيل سيراميد ولمشتقه الكبريتي. (PAPS: الكبريتات أو السلفات الفعالة، فسفو أدينوزين –5´– فسفوسلفات).



الشكل 26-10 : التخليق الحيوي للجنجليوزيدات. (NeuAc: حمض N- أسيتيل نور أمينيك)

المظاهر السريرية:

يسبب عوز الفعالية السطحية بالرئة متلازمة الضائقة التنفسية:

إن الفاعلية السطحية الرئوية إفراز ذو خصائص واضحة فعالة بالسطح، وهو يتألف بشكل رئيسي من شحميات مع بعض البروتينات والسكريات، وهو يحمي الحويصلات الهوائية (الأسناخ) من أن تنخمص (تنطوي وتفقد وظيفتها). وتعود الفعالية السطحية بشكل كبير لوجود الشح الفسفوري وهو ثنائي بلميتويل فسفاتيديل كولين، الذي يتم تخليقه بوقت قصير قبل الولادة عند الأطفال المجتازين فترة حمل تامة. ويؤدي عوز الفعالية السطحية الرئوية في الرئتين عند العديد من الولدان قبل أوانهم إلى حدوث متلازمة الضائقة التنفسية (Respiratory distress syndrome). وقد ثبت أن إعطاء مواد فعالة بالسطح، سواء كانت طبيعية أو اصطناعية، له فوائد علاجية.

إن الشحميات الفسفورية والشحميات السفنجولية متورطة في التصلب المتعدد وأمراض الشُحَام:

تتميز بعض أمراض معينة بوجود كميات غير سوية من هذه الشحميات في الأنسجة، غالباً في جهاز العصبى. ويمكن تصنيفها إلى مجموعتين (1) أمراض نزع الميلين الحقيقية، (2) الشحام السفنجولي.

ففي التصلب المتعدد (Multiple sclerosis)، الذي هو مرض نزع الميلين، يوجد فقدان بكل من الشحميات الفسفورية (بخاصة بلازما لوجين الإيثانولامين) والشحميات السفنجولية في المادة البيضاء. وبذلك فإن التركيب الشحمي للمادة البيضاء يماثل ذلك في المادة الرمادية. وقد توجد إسترات الكولستريل في المادة البيضاء، مع أنها تكون غائبة في الحالة السوية. وتظهر مستويات مرتفعة من الشحميات الفسفورية في السائل النخاعي (CSF).

إن أمراض الشحام السفنجولي (Sphingolipidoses) مجموعة من الأمراض

الوراثية التي تظهر غالباً في الطفولة. وهذه الأمراض جزء من مجموعة كبيرة من اضطرابات الجسيمات الحالة.

تبدي أمراض تخزين الشحميات ملامح متعددة ثابتة: (1) ففي الأنسجة المتنوعة، يحدث تراكم لشحميات معقدة تمتلك جزءاً مشتركاً في بنيتها هو السيراميد. (2) يكون معدل تخليق الشحميات المخزنة مماثلاً لذلك الموجود لدى الأفراد الأسوياء. (3) إن العيب الإنزيمي في كل من هذه الأمراض هو عوز ناجم عن طفرة جينية (مورثية) في إنزيم حلمهة يحلولي نوعي ضروري لتحطيم الشحميات، أو في بروتين أساسي منشط للإنزيم. (4) يكون مستوى تناقص فعالية الإنزيم المعيب متماثلاً في جميع أنسجة الفرد المصاب. وكنتيجة لهذه الاعتبارات الأساسية المشتركة، ظهرت وتطورت إجراءات تشخيص المرضى بهذه الاضطرابات. كما أصبح ممكناً الكشف عن الحملة متغايري الزيجوت للشواذات الجينية المسؤولة عن هذه الأمراض، وكذلك كشف فيما إذا الحثل الشحامي السفنجولي كان موجوداً فعلاً في الجنين قبل الولادة. وفي هذا الشأن لاقت محاولة المعالجة بالإنزيمات البديلة لسنوات عديدة نجاحاً ضئيلاً. في حين أنه مؤخراً، جرى تطبيق معالجات ناجحة بالإنزيمات التي تم تعديلها كيميائياً لضمان ارتباطها بالمستقبلات في الخلايا المستهدفة، قبل حصول الالتقام (Endocytosis) المتواسط بالمستقبل، كما هو الحال بالنسبة للبلاعم في الكبد لكي توجه β– جلوكوزيداز (جلوكوسيريبروزيداز) في معالجة داء جوشيه (Gaucher's disease). وقد وضعت مؤخراً المعالجة الجينية للاضطرابات اليحلولية تحت الاختبار. ويعرض (الجدول 26-1) موجزاً لأكثر أمراض الشحام أهمية.

يؤدي عوز السلفاتاز المتعدد إلى تراكم كل من سولفوجالاكتوزيل سيراميد والسلفات الستيرويدية والجليكانات البروتينية، وذلك بسبب عوز مشترك لإنزيمات أريل سلفاتاز (Arylsulfatase) B و Aو C وللسلفاتاز الستيرويدية (الجدول 57-6).

المرض	العوز الإنزيمي	التراكم الشحمي (*)	الأعراض السريرية
الداء الفوكوزي	a– فوكوزيداز	Cer-Glc-Gal-GalNAc-÷ - Fuc H– مستضد أسوي	تنكس دماغي ـ شناج عضلي ـ جلد ثخين
الداء الجنجليوزيدي المعمم	–b-GM_1 جالاكتوزيداز	Cer-glc-Gal-(NeuAc)-GalNAc- ÷ - Gal GM_1– جنجليوزيد	تخلف عقلي ـ ضخامة كبدية تشوه هيكلي
داء تاي ـ زاكس	هكسوز أمينيداز A	Cer-Glc-Gal-(NeuAc)-÷- Gal NAc GM_2– جنجليوزيد	تخلف عقلي ـ عمي ـ ضعف عضلي
نمط تاي ـ زاكس أو داء ساندهوف	هكسوز أمينيداز A و B	Cer-Glc-Gal-Gal-÷- Gal NAc جلوبوزيد مع GM_2 – جنجليوزيد	مثل داء تاي زاكس، لكنه يتطور بسرعة أكبر
داء فابري	a– جالاكتوزيداز	جلوبوتريوزيل سيراميد Cer-Glc-Gal - ÷ - Gal	طفح جلدي ـ قصور كلوي (الأعراض التامة فقط عند الذكور منتحى مرتبط بـالإكس)
شحام لاكتوزيدي سيراميدي	لاكتوزيداز السيراميد (β– جالاكتوزيداز	لاكتوز السيراميد - ÷ -Cer-Glc- Gal	أذية دماغية متقدمة ـ ضخامة كبد وطحال
حثل المادة البيضاء متبدل التلون	أريل سلفاتاز A	3– سولفوجالاكتوزيل سيراميد Cer-Gal- ÷ - OSO_3	تخلف عقلي واضطرابات نفسية عند البالغين، نزع ميلين
داء كراب	β– جالاكتوزيداز	جالاكتوزيل سيراميد Gal- ÷ -Cer	تخلف عقلي ـ الميلين غائب تقريباً
داء جوشيه	β– جلوكوزيداز	جالوكوزيل سيراميد Glc- ÷ -Cer	ضخامة كبد وطحال، تآكل العظام الطويلة ـ تخلف عقلي عند الأطفال
داء نيمان ـ بيك	سفنجوميليناز	كولين -p- ÷ - Cer سفنجوميلين	ضخامة كبد وطحال، تخلف عقلي ـ يكون مميتاً في بداية الحياة
داء فاربر	سيراميداز	سفنجوزين –÷ – أسيل سيراميد	بحة في الصوت ـ التهاب الجلد ـ تشوه هيكلي ـ تخلف عقلي ـ مميت في بداية الحياة.

الجدول 26-1: أمثلة عن أمراض الشحام السفنجولي.

(*) (Neu A: حمض N– أسيتيل نورأمينيك؛ Cer:سيراميد، Glc:جلوكوز، Gal:جالاكتوز، Fuc: فوكوز، –÷ – موقع تفاعل الإنزيم المعوز).

الخلاصة:

1- الجليسرولات ثلاثية الأسيل هي الشحميات الرئيسية المدخرة للطاقة، في حين أن الفسفوجليسرولات والسفنجوميلين والشحميات السفنجولية السكرية مركبات متقابلة الزمر تقوم بأدوار عديدة، تتراوح من الوظائف البنيوية في الأغشية الخلوية إلى وظائف متخصصة، كطلائع للمراسيل الثانية للهرمونات والفعالية السطحية الرئوية والعامل المنشط للصفيحات (PAF).

2 - يتم تخليق الجليسرولات ثلاثية الأسيل وبعض الفسفوجليسرولات بالأسيلة التدريجية للجليسرول 3- فسفات. ويتفرع السبيل إلى فرعين عند مرحلة الفسفاتيدات، مشكلاً الشحميات الفسفورية الإينوزيتولية والكارديوليبين على جانب، وثلاثي أسيل الجليسرول والشحميات الفسفورية الكولينية والإيثانولامينية على الجانب الآخر.

3 - البلازمالوجينات و PAF هي شحميات فسفورية إيثرية تتشكل بأسيلة وألكلة ثنائي هيدروكسي أسيتون فسفات.

4 - تتشكل جميع الشحميات السفنجولية من السيراميد (N-أسيل سفنجوزين). والسفنجوميلين هو شحم فسفوري يوجد على نحو مميز في أغشية العضيات المساهمة في عمليات الإفراز (مثل جهاز جولجي). وإن أبسط الشحميات السفنجولية السكرية هي باتحاد السيراميد مع ثمالة سكرية (مثل Gal Cer فيالميلين). أما الجنجليوزيدات فهي شحميات سفنجولية سكرية أكثر تعقيداً تحوي أكثر من ثمالة سكرية مع حمض السياليك. وهي توجد في الطبقة الخارجية من الغشاء البلازمي حيث تشارك في الكنان السكري وهي مهمة كمستضدات وكمستقبلات خلوية.

5 - إن الشحميات الفسفورية والشحميات السفنجولية متورطة في العديد من العمليات المرضية منها متلازمة الضائقة التنفسية (فقدان الفاعلية السطحية الرئوية)، والتصلب المتعدد (نزع الميلين)، والشحام السفنجولي (عدم القدرة على تحطيم الشحميات السفنجولية في الجسيمات الحالة ناجم عن عيوب وراثية في إنزيمات الهيدرولاز).

*** References:**

Hannun YA: The sphingomyelin cycle and second messenger function of ceramide. *J Biol Chem* 1994;269:3125.

Merrill AH, Sweeley CC: Sphingolipids: Metabolism and cell signaling. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes.* Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier,1996.

Neufeld EF: Lysosomal storage diseases. *Annu Rev Biochem* 1991;60:257.

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 7th ed. McGraw-Hill, 1995.

Snyder F: Platelet-activating factor: the biosynthetic and catabolic enzymes. *Biochem* J 1995;305:245.

Tijburg LBM, Geelen MJH, van Golde LMG: Regulation of the biosynthesis of triacylglycerol, phosphatidyl choline and phosphatidylethanolamine in the liver. *Biochim Biophys Acta* 1989;1004:1.

Vance DE: Glycerolipid biosynthesis in eukaryotes. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes.* Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 1996.

van Echten G, Sandhoff K: Ganglioside metabolism. *J Biol Chem* 1993;268:5341.

VanGolde LMG, Batenburg JJ, Robertson B: The pulmonary surfactant system: biochemical aspects and functional signi ficance. *Physiol Rev* 1988;68:374.

Waite M: Phospholipases. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes.* Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 1996.

الفصل السابع والعشرون

نقل الشحميات وتخزينها

Lipid Transport and Storage

مقدمة:

يجب أن تنقل الدهون الممتصة من الغذاء والشحميات التي يتم تخليقها في الكبد والنسيج الشحمي بين الأنسجة والأعضاء المختلفة لاستعمالها وتخزينها. ونظراً لأن الشحميات غير ذوابة في الماء، فإن المشكلة الناشئة هي في كيفية نقلها في الوسط المائي، أي البلازما الدموية. وقد حلت هذه المسألة بارتباط الشحميات غير القطبية (ثلاثي أسيل الجليسرول وإسترات الكوليستريل) مع الشحميات متقابلة الزمر (الشحميات الفسفورية والكوليسترول) والبروتينات لتشكيل البروتينات الشحمية المزوجة (القابلة للامتزاج) بالماء.

الأهمية الطبية البيولوجية:

يجري استيعاب السعرات الحرارية الفائضة، في الوجبة الطعامية عند القارت كالإنسان (القارت: المقتات بالمواد الحيوانية والنباتية معاً)، في الطور الابتنائي من دورة الإطعام، ويلي ذلك فترة من التوازن السلبي للسعرات الحرارية عندما يعتمد الكائن الحي على مخزونه من السكريات والدهون. وتتوسط البروتينات الشحمية هذه الدورة بنقلها للشحميات من الأمعاء على شكل دقائق كيلوسية، ومن الكبد على شكل بروتينات شحمية وضيعة الكثافة (VLDL)، وذلك إلى أغلب الأنسجة لأكسدتها، وإلى النسيج الشحمي لتخزينها. وتتحرك الشحميات من النسيج

الشحمي على شكل أحماض دهنية حرة (FFA) مرتبطة بألبومين المصل. وتحدث الشذوذات في أيض البروتينات الشحمية عند مواقع إنتاجها أو استعمالها، وهي تسبب حالات عديدة مختلفة من نقص أو فرط البروتينات الشحمية في الدم (Hypo- or Hyperlipoproteinemias). وأكثرها شيوعاً هو الداء السكري، حيث يسبب عوز الإنسولين تحريكاً مفرطاً لـ FFA واستعمالاً ضئيلاً للدقائق الكيلوسية و VLDL، مما يؤدي إلى فرط ثلاثي أسيل الجليسرول في الدم (Hypertriacylglycerolemia). وتنجم معظم الحالات المرضية الأخرى المؤثرة في نقل الشحميات بشكل رئيسي عن عيوب وراثية في تخليق قسم الصميم البروتيني (Apoprotein) من البروتين الشحمي، أو الإنزيمات الأساسية، أو مستقبلات البروتين الشحمي. وتسبب بعض هذه العيوب فرطاً بالكوليسترول في الدم (Hypercholesterolemia) وتصلب الشرايين (Atherosclerosis) المبكر. وتؤدي الترسبات الدهنية المفرطة لحدوث البدانة (السمنة: Obesity). حيث تعد البدانة البطنية، بشكل خاص، عامل خطورة لازدياد الوفيات ولفرط ضغط الدم وللداء السكري غير المعتمد على الإنسولين (NIDDM) ولفرط شحميات الدم ولفرط سكر الدم وللعديد من حالات الخلل الوظيفي في الغدد الصماء.

تنقل الشحميات في البلازما على شكل بروتينات شحمية:

يوجد أربعة صفوف رئيسة من الشحميات في البروتينات الشحمية:

أظهر استخلاص شحميات البلازما باستخدام مذيب شحمي مناسب ثم فصل الخلاصة إلى صفوف متعددة من الشحميات، وجود كل من الجليسرولات ثلاثية الأسيل (ثلاثيات أسيل الجليسرول) والشحميات الفسفورية والكوليسترول وإسترات الكولستريل، بالإضافة إلى وجود جزء صغير للغاية من الأحماض الدهنية اللامؤسترة طويلة السلسلة (أحماض دهنية حرة) وهي تشكل أقل من 5 ٪ من إجمالي الأحماض الدهنية الموجودة في البلازما (الجدول 27-1). ومن المعروف الآن أن هذا الجزء الأخير، أي الأحماض الدهنية الحرة (FFA) هي الأكثر نشاطاً أيضياً من بين الشحميات في البلازما.

الشحم	ممول/ل	
	المتوسط	المجال
ثلاثي أسيل الجليسرول	1.6	2.0[2]-0.9
إجمالي الشحميات الفسفورية[1]	3.1	5.8-1.8
الكوليسترول الكلي الكوليسترول الحر (غير المؤستر)	5.2 1.4	8.3-2.8 2.7-0.7
الأحماض الدهنية الحرة (غير المؤسترة)	0.4	0.6[2]-0.2

الجدول 27-1: شحميات البلازما الدموية عند الإنسان.

1– *جرى تحليلها كفسفور شحمي.*

2– *تختلف وفقاً للحالة التغذوية.*

من إجمالي الأحماض الدهنية، 45٪ منها ثلاثيات أسيل جليسرول و 35٪ شحميات فسفورية و15٪ إستركوليستريل وأقل من 5٪ أحماض دهنية حرة. ويمكن تجاوز المجالات عند الحالات غير السوية أو المرضية.

تم تحديد أربع مجموعات رئيسية من البروتينات الشحمية البلازمية:

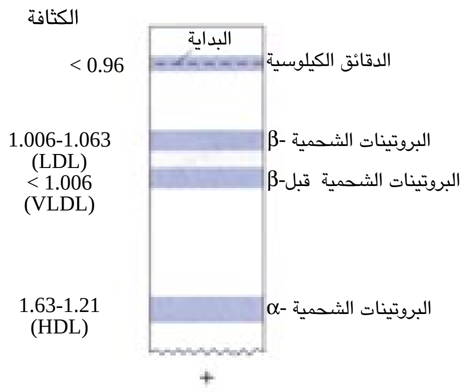
يكون الدهن الصرف (النقي) أقل كثافة من الماء، ويتبع ذلك أنه كلما ازدادت نسبة الشحميات إلى البروتينات في البروتين الشحمي، فإن الكثافة تنخفض (الجدول 27-2). وقد جرى استخدام هذه الخاصية في فصل البروتينات الشحمية المختلفة في البلازما عن طريق التنبيذ الفائق (Ultracentrifugation). ويبين (الجدول 27-2) تركيب الأجزاء المختلفة من البروتينات الشحمية، التي جرى الحصول عليها بالتنبيذ. ومن الواضح أنه توجد صفوف كيميائية متعددة من الشحميات بكميات مختلفة في كل من أجزاء البروتين الشحمي. ونظراً لأن كثافة الأجزاء تمثل الكينونات الفيزيولوجية الموجودة في البلازما، فإن إجراء مجرد تحليل كيميائي للشحميات البلازمية (فيما عدا FFA)، لا تعطي سوى معلومات ضئيلة عن فيزيولوجيتها.

الجزء	المصدر	القطر نانومتر	الكثافة	التركيب						
				البروتين ٪	إجمالي الشحميات ٪	النسب المئوية لإجمالي الشحميات				
						ثلاثي أسيل جليسرول	شحوم فسفوري	إستر الكوليستريل	كوليسترول (حر)	أحماض دهنية
الدقائق الكيلوسية	الأمعاء	1000-90	< 0.95	2 - 1	99 - 98	88	8	3	1	
المتبقي من الدقائق الكيلوسية	الدقائق الكيلوسية	100-45	< 0.019	8-6	94-92	80	11		4	1
VLDL	الكبد (الأمعاء)	90-30	- 0.95 1.006	10-7	93-90	56	20	15	8	1
البروتينات الشحمية متوسطة الكثافة (IDL)	VLDL	30-25	1.006- 1.019	11	89	29	26	34	9	1
LDL	VLDL	25-20	1.019- 1.063	21	79	13	28	48	10	1
HDL HDL_1		25-20	1.019 1.063-	32	68	2	53	34	11	
HDL_2	الكبد والأمعاء، VLDL، الدقائق الكيلوسية	20-10	1.063- 1.125	33	67	16	43	31	10	
HDL_3		10-5	1.125- 1.210	57	43	13	46	29	6	6
قبل- HDL β*		< 5	> 1.21	70	30		83		17	
الأحماض الدهنية غير المرتبطة بالألبومين	النسيج الشحمي		> 1.281	99	1	0	0	0	0	100

الجدول 27-2: تركيب البروتينات الشحمية في بلازما الإنسان.

** هو قسم من الجزء الثانوي يعرف بـ VHDL (البروتين الشحمي الفائق الكثافة).*

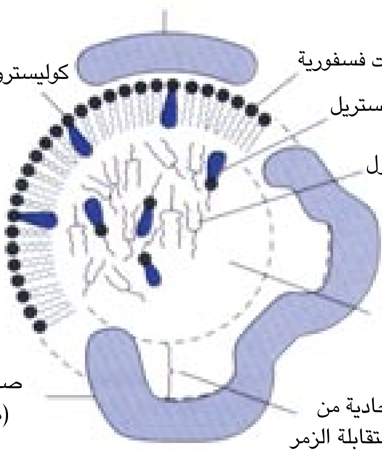
بالإضافة إلىFFA ، فقد تم تحديد أربع مجموعات رئيسة من البروتينات الشحمية المهمة فيزيولوجياً وفي التشخيص السريري. وهي (1) الدقائق الكيلوسية (Chylomicrons)، المشتقة من الامتصاص المعوي لثلاثي أسيل الجليسرول؛ و(2) البروتينات الشحمية وضيعة الكثافة (Very low density lipoproteins; VLDL) (أو قبل البروتينات الشحمية – β)، وهي تشتق من الكبد من أجل تصدير ثلاثي أسيل الجليسرول؛ و (3) البروتينات الشحمية خفيضة الكثافة (low density lipoproteins (LDL أو البروتينات الشحمية – β)، التي تمثل المرحلة النهائية في تقويض VLDL؛ و (4) البروتينات الشحمية عالية الكثافة (High-density lipoproteins)، (HDL) (أو البروتينات الشحمية – β)، وهي تشترك في أيض كل منVLDL والكيلوسات الدقيقة وكذلك في نقل الكوليسترول. ويكون ثلاثي أسيل الجليسرول هو الشحم السائد في الدقائق الكيلوسية و VLDL، في حين يكون الكوليسترول والشحميات الفسفورية هي الشحميات السائدة في LDL و HDL على الترتيب (الجدول 27-2). بالإضافة إلى استخدام التقانات المعتمدة على كثافتها، فإنه يمكن فصل البروتينات الشحمية بناء على خصائص رحلانها الكهربائي إلى البروتينات الشحمية α و β وقبل (الشكل 27-1) ويمكن تحديدها بدقة أكبر وفقاً لتقانة الرحلان الكهربائي المناعي.



الشكل 27-1: فصل البروتينات الشحمية البلازمية بالرحلان الكهربائي على هلامة الأجاروز.

الشحميات متقابلة الزمر مكونات أساسية في البروتينات الشحمية:

يتكون البروتين الشحمي النموذجي- كالدقيقة الكيلوسية أو – VLDLمن لب شحمي مؤلف بشكل رئيسي من ثلاثي أسيل جليسرول غير قطبي و أستر الكولستريل، ويكون محاطاً بطبقة سطحية أحادية من جزيئات الشحميات الفسفورية متقابلة الزمر والكوليسترول. وتكون هذه الجزيئات متوجهة بحيث تكون زمرها القطبية في مواجهة الوسط المائي الخارجي كما هو الحال في الغشاء الخلوي (الفصل 16). يعرف القسم البروتيني في البروتين الشحمي بصميم البروتين الشحمي (Apolipoprotein) أو بالصميم البروتيني (Apoprotein)، وهو يشكل ما يقارب 40٪ من بعض أنماط HDL ونحو 1٪ من الدقائق الكيلوسية. وتكون بعض صمائم البروتينات الشحمية أجزاء متممة لا يمكن نزعها، في حين تكون أخرى حرة بالانتقال إلى بروتينات شحمية أخرى (الشكل 27-2).



الشكل 27-2 : البنية العامة للبروتينات الشحمية البلازمية. يمكن ملاحظة أوجه التشابه مع بنية الغشاء البلازمي. توجد كمية صغيرة من إستر الكولستريل وثلاثي أسيل جليسرول في الطبقة السطحية والقليل من الكوليسترول الحر في اللب.

إن توزع صمائم البروتينات الشحمية يميز البروتين الشحمي:

يوجد واحد أو أكثر من صمائم البروتين الشحمي (بروتينات أو عديدات ببتيدية) في كل بروتين شحمي. وبناء على التسمية ABC، فإن صميم البروتين الشحمي الرئيسي في HDL (البروتين الشحمي ـ β) يعرف بـ A. أما صميم البروتين الشحمي الأساسي في LDL (البروتين الشحمي ـ β) فهو الصميم البروتيني الشحمي B، وهو موجود أيضاً في VLDL والدقائق الكيلوسية. إلا أن apo B، الدقائق الكيلوسية (B-48) أصغر من apo B-100 الذي في LDL أو VLDL. ويتم تخليق B-48 في الأمعاء، أما B-100 ففي الكبد. (في الجرذان، يقوم الكبد بتشكيل B-48 بالإضافة لـ B-100).

إن apo B-100 أحد أطول السلاسل الأحادية عديدة الببتيد المعروفة، ويحوي 4536 حمضاً أمينياً. ويتشكل apo B-48 (يشكل 48 ٪ من حجم B-100) من RNA m نفسه كما في apo B-100. ومن الواضح أنه في الأمعاء، لا تكون رامزة (Codon) التوقف موجودة في الـ DNA المجيني، ويتم إدخالها بآلية ناسخة لـ RNA والتي توقف الترجمة عند ثمالة الحمض الأميني ذي الرقم 2153 لتحرير apo B-48. أما الصمائم البروتينية الشحمية C-I و C-II و C-III فهي عديدات ببتيدية أصغر حجماً وتنتقل بحرية بين البروتينات الشحمية المختلفة المتعددة (الجدول 27-3).

وتشكل السكريات نحو 5٪ تقريباً من apo B، وهي تضم المانوز والجالاكتوز والفوكوز والجلوكوز والجلوكوز أمين وحمض السياليك. لذلك فإن بعض البروتينات الشحمية هي بروتينات سكرية أيضاً. وتوجد صمائم بروتينية شحمية أخرى عديدة في البروتينات الشحمية البلازمية أيضاً. أحدها الصميم البروتيني الشحمي E الغني بالأرجينين والذي عزل من VLDLو HDL، وهو يحوي الأرجينين بمقدار 10٪ من إجمالي الأحماض الأمينية فيه، ويشكل 5-10٪ من إجمالي الصمائم البروتينية الشحمية في VLDL عند الأفراد الأسوياء، لكنه يوجد بكميات مفرطة في β-VLDL العريض عند المرضى بفرط البروتينات الشحمية في الدم من النمط III.

تنجز صمائم البروتينات الشحمية، أدواراً عديدة: (1) يمكنها أن تشكل جزءاً من بنية البروتين الشحمي، مثل apo B؛ (2) تعد تمائم عاملة (Cofactors) للإنزيمات،

مثل C-II كتميم عامل (عامل مساعد) خاص بليباز البروتين الشحمي، و A-I لناقلة أسيل ليسيثين: كوليسترول، و (3) هي تعمل كلجائن للتآثر مع مستقبلات البروتينات الشحمية في الأنسجة، مثل apo B-100 و apo E لمستقبل LDL، و apo E للمستقبل المتبقي، و apoA-I لمستقبلة HDL.

تستقلب الأحماض الدهنية الحرة بسرعة:

تظهر الأحماض الدهنية الحرة (FFA، الأحماض الدهنية اللامؤسترة، الأحماض الدهنية غير المؤسترة) في البلازما نتيجة التحلل الشحمي لثلاثي أسيل الجليسرول في النسيج الشحمي أو كنتيجة لفعل ليباز البروتين الشحمي في أثناء قبط ثلاثيات أسيل الجليسرول البلازمية إلى الأنسجة. وهي توجد مرتبطة مع لألبومين، الذي يعد مذيباً فعالاً جداً، بتراكيز تتراوح بين 0.1 و 2.0 ميكرومكافئ/مل من البلازما. وهي تضم الأحماض الدهنية طويلة السلسلة الموجودة في النسيج الشحمي، أي أحماض البلميتيك والستيريك والأولييك والبالميتولييك واللينولييك وأحماض أخرى متعددة اللاإشباع، بالإضافة لكميات أصغر من الأحماض الدهنية الأخرى طويلة السلسلة. وقد تم وصف مقرات الارتباط على الألبومين ذات الألفة المتفاوتة تجاه الأحماض الدهنية.

وقد سجلت مستويات منخفضة من الأحماض الدهنية الحرة في حالة التغذية الكاملة، وترتفع إلى نحو 0.5 ميكرومكافئ/مل بعد الامتصاص، وإلى ما بين 0.7 و0.8 ميكرومكافئ/مل، في حالة الصيام التام. وقد يرتفع مستواها في داء السكري غير المراقب إلى حدود 2 ميكرومكافئ/مل ويهبط المستوى مباشرة بعد الطعام ويرتفع مجدداً قبل الوجبة التالية؛ لكن تبقى الأحماض الدهنية الحرة بمستوى منخفض جداً عند الحيوانات التي تأكل باستمرار كالمجترات حيث يوجد تدفق مستمر للغذيات من الأمعاء.

الوظائف والملاحظات	الكثافة الجزيئية (Da)	البروتين الشحمي	صميم البروتين الشحمي
النقل العكسي للكوليسترول، منشط لناقلة أسيل ليسيتين: كولسارول (LCAT) لجين لمستقبل HDL	28000	HDL، الدقائق الكيلوسية	Apo A-I
البنية من موحودين متماثلين مرتبطين بجسر ثنائي الكبريت، مثبط لـ apo Al و LCAT	17000	HDL، الدقائق الكيلوسية	Apo A-II
يترافق مع تشكيل البروتينات الشحمية الغنية بثلاثي أسيل الجليسرول. الوظيفة غير معروفة. يتم تخليقه في الأمعاء إفراز VLDL	46000	يفرز مع الدقائق الكيلوسية لكنه ينقل إلى HDL	Apo A-IV
إفراز VLDL من الكبد، لجين لمستقبل LDL	550000	IDL، VLDL، LDL	Apo B-100
إفراز الدقائق الكيلوسية من الأمعاء	260000	الدقائق الكيلوسية، المتبقي من الدقائق الكيلوسية	Apo B-48
منشط محتمل لـ LCAT	7600	HDL، VLDL، الدقائق الكيلوسية	Apo - CI
منشط ليباز البروتين الشحمي	8916	HDL، VLDL، الدقائق الكيلوسية	Apo - CII
له عدة أشكال متنوعة بحسب المحتوى من حمض السياليك. يثبط apo C-II	8750	HDL، VLDL، الدقائق الكيلوسية	Apo C-III
قد يعمل كبروتين ناقل للشحميات	19300	أجزاء فرعية من HDL	Apo D
يوجد بكميات مفرطة في VLDL-b المرضي بالنمط III من فرط البروتينات الشحمية بالدم.هو الصميم البروتيني الوحيد الموجود في HDL c عند الحيوانات المصابة بفرط كوليسترول الدم المحرض بالغذاء. لجين لمستقبل المتبقي من الدقائق الكيلوسية في الكبد ومستقبل LDL	34000	HDL، IDL، VLDL الدقائق الكيلوسية، المتبقي من الدقائق الكيلوسية	Apo E

الجدول 3-27: صمائم البروتينات الشحمية في البروتينات الشحمية في بلازما الإنسان.

يكون معدل إزالة الأحماض الدهنية الحرة من الدم سريعاً جداً. ويتأكسد بعضها الذي يتم قبطه وهو يؤمن نحو 25-50 ٪ من احتياج الطاقة في الصيام. أما الذي يتبقى من القبط فتتم أسترته. وفي حالة الجوع، يتأكسد الدهن بدرجة كبيرة تفوق أكسدة الأحماض الدهنية الحرة في الحالة السوية. وينجم هذا الاختلاف عن أكسدة الشحميات المؤسترة من الدم أو أكسدة تلك الشحميات الموجودة في الأنسجة. ويعتقد أن هذه العملية الأخيرة تحدث على نحو خاص في القلب والعضلات الهيكلية، حيث توجد مدخرات كبيرة من الشحميات في الخلايا العضلية.

يتعلق تقلب (Turnover) الأحماض الدهنية الحرة بشكل مباشر بتركيز الأحماض الدهنية الحرة. بذلك، فإن معدل إنتاجها في النسيج الشحمي يتحكم بتركيزها في البلازما والذي يحدد بدوره درجة قَبْط الأحماض الدهنية الحرة من قبل الأنسجة الأخرى. ويبدو أنه ليس للحالة التغذوية تأثير كبير على القبط الجزئي للأحماض الدهنية الحرة من قبل الأنسجة، لكنها تغير نسبة القبط الذي يتأكسد بالمقارنة مع الجزء الذي يؤستر، حيث يتأكسد في الصيام أكثر من حالة الإطعام. وبعد تفارق معقد حمض دهني ـ ألبومين عند الغشاء البلازمي، ترتبط الأحماض الدهنية ببروتين غشائي ناقل للأحماض الدهنية يعمل كناقل عبر الغشاء بالترافق مع Na^+. وحالما تدخل العصارة الخلوية ترتبط الأحماض الدهنية الحرة بالبروتينات الرابطة للأحماض الدهنية. ويعتقد أن دور هذه البروتينات في النقل داخل الخلية يكون مماثلاً لدور ألبومين المصل في النقل خارج الخلوي للأحماض الدهنية طويلة السلسلة.

ينقل ثلاثي أسيل الجليسرول من الأمعاء في الدقائق الكيلوسية ومن الكبد في البروتينات الشحمية وضيعة الكثافة:

توجد الدقائق الكيلوسية تحديداً في الكيلوس (Chyle) المتشكل فقط في الجهاز اللمفي النازح من الأمعاء. وهي مسؤولة عن نقل كافة الغذائية إلى الدورة الدموية. وتكون الجسيمات الأصغر والأكثر كثافة التي تمتلك الصفات الفيزيائية ذاتها التي

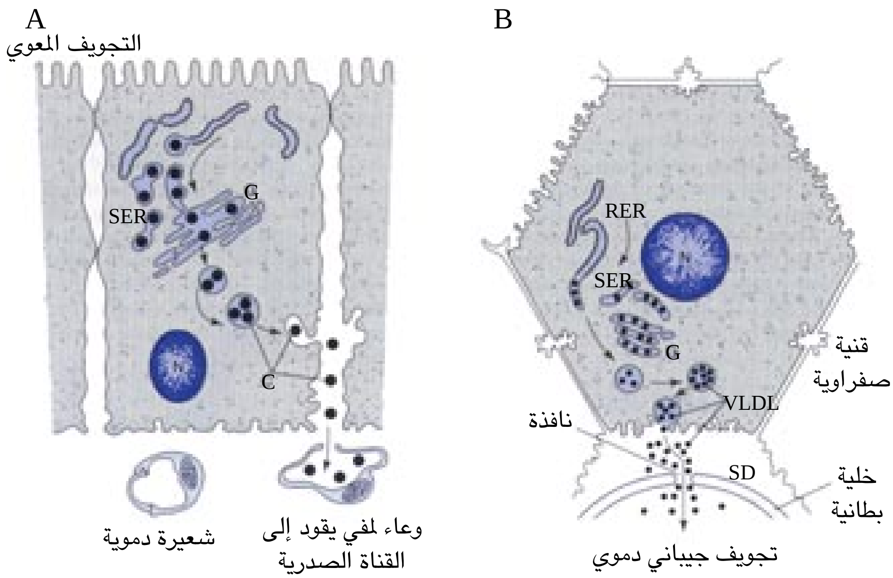
لـ VLDL موجودة أيضاً في الكيلوس. ويجري تشكيلها حتى في حالة الصيام. ومنشأ شحمياتها بشكل رئيسي من الإفرازات الصفراوية والمعوية. ومن جانب آخر يزداد تشكيل الدقائق الكيلوسية مع زيادة ثلاثي أسيل الجليسرول الممتص. ويكون معظم VLDL بالبلازما من منشأ كبدي. وهي الحمَّالات التي تنقل ثلاثي أسيل الجليسرول من الكبد إلى الأنسجة غير الكبدية.

توجد نقاط تشابه عديدة في آلية تشكيل الدقائق الكيلوسية في الخلايا المعوية و VLDL في الخلايا المتنية الكبدية (الشكل 27-3). ويتم تخليق الصميم البروتيني الشحمي B بوساطة الريباسات في الشبكة الهيولية الباطنية الخشنة وينجبل بالبروتينات الشحمية في الشبكة الهيولية الباطنية الملساء، التي تعد المقر الرئيسي لتخليق ثلاثي أسيل الجليسرول. وتعبر البروتينات الشحمية خلال جهاز جولجي، حيث تتم إضافة ثمالات سكرية للبروتين الشحمي. وتتحرر الدقائق الكيلوسية وVLDL إما من الخلايا المعوية أو إما من الخلايا الكبدية عن طريق اندماج الفجوة الإفرازية مع الغشاء الخلوي (الاحتساء العكسي). وتمر الدقائق الكيلوسية إلى الفضوات بين الخلايا المعوية، لتصل في النهاية إلى طريقها نحو الجهاز اللمفي (اللوابن؛ مجاري الكيلوس Lacteals)، النازح من الأمعاء. ويفرز VLDL من الخلايا المتنية الكبدية إلى فضوة ديسه (Disse) ومن ثم إلى أشباه الجيوب (الجيبباني) الكبدية عبر نوافذ في البطانة البطانية. إن أوجه التشابه بين العمليتين والآليات التشريحية مثيرة للغاية، وباستثناء غدة الثدي، فإن الكبد والأمعاء هما النسيجان الوحيدان اللذان يُفْرز منهما شحوم جسيمانية (Particulate). وإن عدم قدرة الشحم الجسيماني الذي له حجم الدقائق الكيلوسية و VLDL على المرور عبر الخلايا البطانية في الشعيرات الدموية دون أن تطرأ عليه حلمهة مسبقاً هو على الأرجح السبب في دخول الدهون الغذائية إلى الدورة الدموية عن طريق الجهاز اللمفاوي (القناة الصدرية) وليس عن طريق الجهاز البابى الكبدي.

على الرغم من أن الدقائق الكيلوسية و VLDL المعزولين من الدم يحويان صمائم البروتينات الشحمية E و C، فإن البروتينات الشحمية المفروزة حديثاً أو الوليدة تحوي القليل منهما، ومن الواضح أنها تحصل على المتممة الكاملة من عديدات الببتيد apo E و apoC بنقلها من HDL وذلك حالما تدخل الدقائق الكيلوسية

وVLDL للدوران (الشكلان 27-4 و 27-5). وستعطى لاحقاً تفاصيل عن العوامل المتحكمة بإفراز VLDL من الكبد.

يعد apo B أساسياً لتشكيل الدقائق الكيلوسية وVLDL. ويكون apo B في حالة فقد البروتين الشحمي بيتا من الدم (Abetalipoproteinemia). (مرض نادر الحدوث) غير قادر على القيام بوظيفته لوجود عيب في البروتين الناقل لثلاثي أسيل الجليسرول الذي يمنع تحميل apo B مع الشحميات؛ لذلك، فإنه لا تتشكل البروتينات لشحمية المحتوية صميم البروتين الشحمي هذا، وتتراكم القطيرات الشحمية في الأمعاء والكبد.



الشكل 27-3 : تشكل وإفراز كل من (A) الدقائق الكيلوسية في الخلية المعوية و(B) البروتينات الشحمية وضيعة الكثافة في الخلية الكبدية. (RER: الشبكة الهيولية الباطنية الخشنة؛ SER:الشبكة الهيولية الباطنية الملساء؛ G:جهاز جولجي؛ N:النواة؛ C:دقائق كيلوسية؛ VLDL:البروتينات الشحمية وضيعة الكثافة؛ E:البطانة؛ SD: حيّز ديس Disse، الذي يحوي بلازما الدم.) إن هذا الشكل هو تمثيل تخطيطي للأحداث التي يمكن ملاحظتها بالمجهر الإلكتروني.

تتقوض الدقائق الكيلوسية والبروتينات الشحمية وضيعة الكثافة بسرعة:

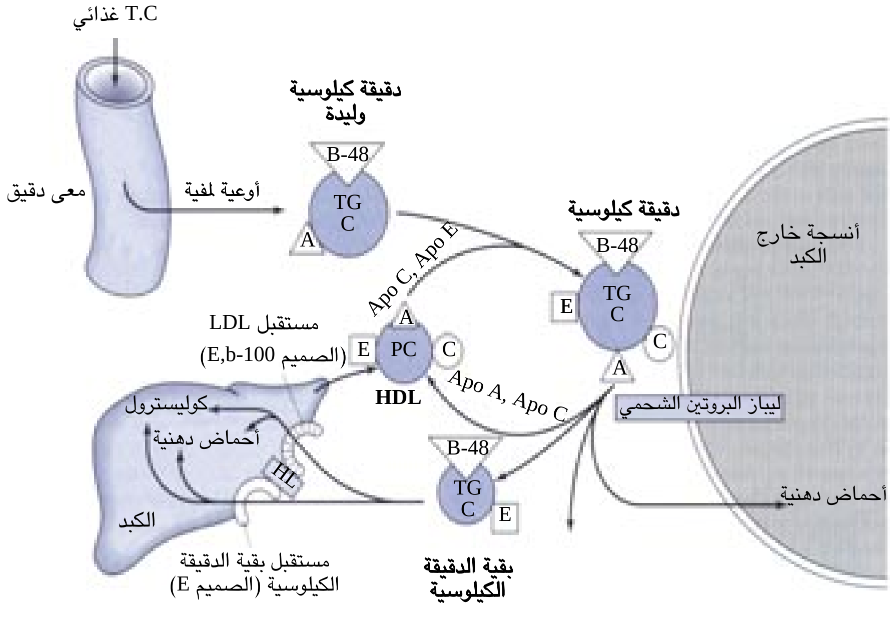
تكون تصفية الدقائق الكيلوسية الموسومة من الدم سريعة ويكون العمر النصفي لاختفائها معدوداً بالدقائق عند الحيوانات الصغيرة (كالجرذان) لكنه يكون أطول في الحيوانات الأكبر (كالإنسان)، حيث لا يتجاوز فيها الساعة الواحدة. وتتقوض الجسيمات الأكبر بسرعة أكبر من الأخرى الأصغر. وعندما تحقن الدقائق الكيلوسية داخل الوريد بعد أن توسم بالأحماض الدهنية في ثلاثي أسيل الجليسرول، فإن نحو 80٪ من الوسم يظهر في النسيج الشحمي والقلب والعضلات و 20٪ تقريباً في الكبد. وكما أظهرت التجارب التي استخدمت عضواً مروى بأن الكبد لا يستقلب الدقائق الكيلوسية أو الـ VLDL الطبيعة (الأصلية) بشكل كبير، فإن الوسم في الكبد يجب أن يكون ناجماً بشكل ثانوي عن أيضها في الأنسجة غير الكبدية.

تتحلمه ثلاثيات أسيل الجليسرول في الدقائق الكيلوسية و VLDL بليباز البروتين الشحمي:

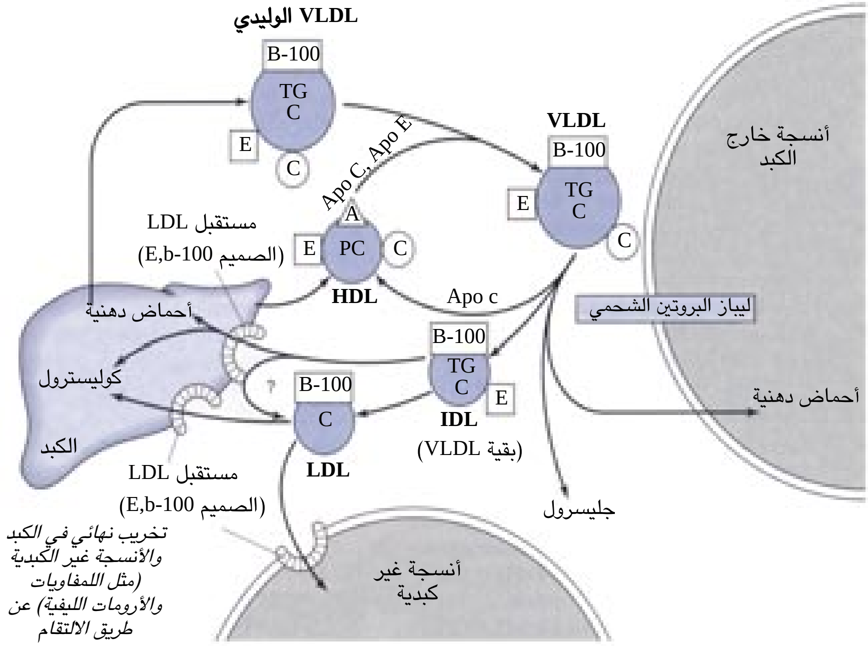
توجد علاقة قوية بين قدرة النسيج على جَبْل (دمج) الأحماض الدهنية في ثلاثيات أسيل الجليسرول بالبروتينات الشحمية وفاعلية إنزيم ليباز البروتين الشحمي (Lipoprotein Lipase). وهو يتوضع على جدران الشعيرات الدموية، مرتبطاً بالبطانة عن طريق سلاسل من الجليكانات البروتينية سلفات الهيباران المشحونة سلباً.

وتبين أنه موجود في القلب والنسيج الشحمي والطحال والرئة ولب الكلية والأورطي والحجاب الحاجز وغدة الثدي المرضعة وكبد الولدان. وهو لا يكون فعالاً في الكبد البالغ. ولا يحوي الدم السوي كميات معتبرة من هذا الإنزيم، إلا أنه بعد حقن الهيبارين، يتحرر ليباز البروتين الشحمي من ارتباطه بسلفات الهيباران إلى

الدوران ويكون ذلك مترافقاً بتصفية فرط شحم الدم. وهناك إنزيم ليباز آخر هو الليباز الكبدي، الذي يتحرر أيضاً من الكبد بوساطة كميات كبيرة من الهيبارين، لكن لهذا الإنزيم خصائص تختلف عن تلك الخاصة بليباز البروتين الشحمي، وهو لا يتفاعل بسهولة مع الدقائق الكيلوسية. ويكون موجوداً على الخلايا البطانية في الكبد وهو متعلق بأيض الـ HDL والمتبقي من الدقائق الكيلوسية.



شكل 27-4 : المصير الأيضي للدقائق الكيلوسية. (A:صميم البروتين الشحمي A؛ B-48:صميم البروتين الشحمي B-48؛ C:صميم البروتين الشحمي C؛ E: صميم البروتين الشحمي E؛ HDL: البروتين الشحمي رفيع الكثافة؛ T.G: ثلاثي أسيل جليسرول؛ C:الكوليسترول وإسترالكولسترول؛ P:شحم فسفوري؛ HL: ليباز كبدي). تظهر في هذا الشكل الشحميات السائدة فقط.



الشكل 27-5 : المصير الأيضي للبروتينات الشحمية وضيعة الكثافة (VLDL)وإنتاج البروتينات الشحمية خفيضة الكثافة (LDL) (A) صميم البروتين الشحمي A؛ B-100:صميم البروتين الشحمي B-100؛ (C)صميم البروتين الشحمي C؛ E:صميم البروتين الشحمي E؛ HDL:البروتين الشحمي عالي الكثافة؛ T.G: ثلاثي أسيل جليسرول؛ IDL: البروتين الشحمي متوسط الكثافة؛ C: الكوليسترول وإستر الكولستريل؛ P:شحم فسفوري). تظهر في هذا الشكل الشحميات السائدة فقط. من الممكن أن يتأيض بعض من IDL أيضاً عن طريق مستقبل بقية الدقائق الكيلوسية (الصميم E).

تستلزم فاعلية ليباز البروتين الشحمي كلاً من الشحميات الفسفورية وصميم البروتين الشحمي C-II كتمائم عامل. ويحوي apo C - II مقراً نوعياً لارتباط الشحم الفسفوري والذي يرتبط من خلاله بالبروتين الشحمي. وبذلك فإن الدقائق الكيلوسية و VLDL يوفران الإنزيم لأيضهما مع كل من ركيزته وتمائمه العاملة. وتحدث الحلمهة عندما ترتبط البروتينات الشحمية بالإنزيم على البطانة. ويتحلمه ثلاثي

أسيل الجليسرول بشكل تدريجي إلى ثنائي أسيل جليسرول ثم إلى أحادي أسيل جليسرول الذي يتحلمه في النهاية إلى حمض دهني حر وجليسرول. وتعود بعض الأحماض الدهنية الحرة المتحررة إلى الدم، وترتبط بالألبومين، لكن بالمقابل ينقل معظمها إلى الأنسجة (الشكلان 27-4 و 27-5). يملك ليباز البروتين الشحمي القلبي قيمة K_m منخفضة لثلاثي أسيل الجليسرول، في حين أن K_m للإنزيم في النسيج الشحمي أكبر من تلك بعشر مرات. وعندما يتناقص تركيز ثلاثي أسيل الجليسرول في البلازما عند الانتقال من حالة الإطعام إلى حالة (الإجاعة)، فإن الإنزيم القلبي يبقى مشبعاً بالركيزة، لكن يتناقص إشباع الإنزيم في النسيج الشحمي، لذلك يُوَجَّه القبط من جديد من النسيج الشحمي إلى القلب. وتجري إعادة توجيه مشابهة في أثناء الإرضاع، حيث يتناقص نشاط النسيج الشحمي ويزداد نشاط غدة الثدي، وهذا يسمح بقبط الأحماض الدهنية طويلة السلسلة المتحررة من ثلاثي أسيل جليسرول البروتين الشحمي من أجل تخليق شحميات الحليب.

يعزز الإنسولين، في النسيج الشحمي، تخليق ليباز البروتين الشحمي في الخلايا الشحمية (الدهنية) ومن ثم ازفاءه إلى السطح التجويفي لبطانة الشعيرات الدموية. وتبين أنه يوجد مستقبل VLDL مستقل في الأنسجة غير الكبدية، لكن أهمية ذلك غير واضحة بعد.

تتشكل بقية البروتينات الشحمية بفعل ليباز البروتين الشحمي:

يؤدي التفاعل مع ليباز البروتين الشحمي إلى خسارة 90٪ تقريباً من ثلاثي أسيل الجليسرول من الدقائق الكيلوسية و إلى فقدان apo C (الذي يعود إلى HDL) وليس apo E، الذي يبقى. ويكون للبروتين الشحمي الناتج أو بقية الدقيقة الكيلوسية (Chylomicron remnant) نصف قطر الدقيقة الكيلوسية الأصلية، أما بالنسبة للتركيب المئوي فإنه يصبح غنياً بالكوليسترول وإسترات الكولستريل بسبب خسارة ثلاثي أسيل الجليسرول (الشكل 27-4). وتجري تغيرات مماثلة في VLDL، مع تشكيل بقايا VLDL أو IDL (البروتين الشحمي متوسط الكثافة) (الشكل 27-5).

الكبد مسؤول عن قبط بقية البروتينات الشحمية:

تقبط بقية الدقائق الكيلوسية من قبل الكبد بالالتقام المتواسط بالمستقبلات حيث تحلم وتتأيض إسترات الكولستريل وثلاثيات أسيل الجليسرول. ومن الواضح أن القبط يكون متواسطاً بمستقبل نوعي لـ apo E (الشكل 27-4). وهناك دلائل حديثة تقترح أن كل من مستقبل LDL(apo B- 100, E) ومستقبل البقية النوعي لـ apo E يشاركان في قبط البقية. وأحد المرشحين ليكون مستقبل البقية هو LRP (البروتين القريب من مستقبل الـ LDL)، الذي يماثل مستقبل المكروجلوبلين α_2-. ويقوم الليباز الكبدي بدور مزدوج (1) في فعله كلجين للبروتين الشحمي و (2) في حلمهته لثلاثي أسيل الجليسرول والشحم الفسفوري الخاص به.

بينت الدراسات التي استخدمت VLDL المرسوم فيه B-100 بأن VLDL طليعة لـIDL وبأن IDL هو طليعة لـ LDL. ويوجد جزيء واحد فقط من apo B-100 في كل من فرتكات (جسيمات) هذه البروتينات الشحمية، وتتم المحافظة على ذلك في أثناء التحولات. وبهذا الشكل، فإن كل فرتكة (جسيم) LDLتشتق من فرتكة VLDL واحدة فقط (الشكل 27-5). وهناك مصيران محتملان ينتظران IDL. قد يؤخذ من قبل الكبد مباشرة عن طريق مستقبل LDL (E-apo B-100)، أو أنه يتحول إلى LDL. ويقبط معظم الـ IDL من قبل الكبد عند الجرذان، أما عند الإنسان، فإن نسبة كبيرة جداً منه تشكل LDL، مما يسبب ازدياد تراكيز LDL عند الإنسان بالمقارنة مع الجرذان والعديد من الثدييات الأخرى.

يتأيض LDL عن طريق مستقبل LDL:

من الواضح أن معظم الـ LDL يتشكل من VLD كما نوهنا سابقاً. ويبلغ العمر النصفي لاختفاء apo B- 100 في LDL من الدورة الدموية يومين تقريباً. وأظهرت الدراسات المجراة على مستنبتات كل من الأرومات الليفية واللمفاويات وخلايا العضلات الملساء الشريانية والخلايا الكبدية، وجود مقرات ارتباط نوعية أو مستقبلات لـ LDL، هو مستقبل LDL (B-100,E). وسمي هكذا لأنه نوعي لـ apo B- 100 وليس لـB-48، وهو عند بعض الظروف يقوم بقبط البروتينات الشحمية

الغنية بـapo E. من جانب آخر، يفتقر apo B- 48. للمنطقة النهائية (الطرفية) الكربوكسيلية التي لـ B-100 المحتوية لجيناً لمستقبل الـ LDL. وتكون هذه المستقبلات معيبة في فرط كوليسترول الدم العائلي. ويتدرك نحو 30٪ من LDL في الأنسجة غير الكبدية و 70٪ في الكبد. وتوجد علاقة إيجابية (طردية) بين حدوث تصلب الشرايين التاجية وتركيز كوليسترول الـ LDL في البلازما. ولمزيد من التفصيل حول تنظيم مستقبل الـ LDL انظر بالفصل 28.

يشارك HDL في أيض كل من ثلاثي أسيل جليسرول البروتين الشحمي والكوليسترول:

يتم تخليق HDL وإفرازه من الكبد والأمعاء على حد سواء (الشكل 27-6). إلا أن الـ HDL الوليد (المفروز حديثاً) من الأمعاء لا يحوي الصمائم C أو E بل يحوي A apo فقط. لهذا يجري تخليق apo C و apo E في الكبد ثم ينقلان من HDL الكبدي إلى HDL المعوي عندما يدخل هذا الأخير للبلازما. إن الوظيفة الرئيسة لـ HDL هي أنه يعمل كمخزن للصمائم C أوE الضرورين لأيض الدقائق الكيلوسية و VLDL (الشكلان 27-4 و 27-5).

يتألف HDL الوليد من طبقات مضاعفة من الشحم الفسفوري شبيهة بالقرص تحوي A apo وكوليسترول حر. وتكون هذه البروتينات الشحمية مشابهة للجسيمات (للفرتكات) الموجودة في بلازما المرضى بعوز الإنزيم البلازمي ناقلة أسيل ليسيثين: كوليسترول (LCAT) وكذلك في بلازما مرضى اليرقان الانسدادي. ويرتبط كل من LCAT و apo A-I المفعل لـ LCAT بالقرص. ويؤدي التحفيز بـ LCAT إلى تحويل الشحميات الفسفورية والكوليسترول الحر السطحية إلى إسترات الكولستريل والليزوليسيثين (الفصل 26). وتتحرك استرات الكولستريل اللاقطبية للداخل الكاره للماء من الطبقة المضاعفة، في حين ينقل الليزوليسيثين إلى ألبومين البلازما. ويتواصل التفاعل، مولداً لباً لا قطبياً يدفع الطبقة المضاعفة بعيداً حتى يتشكل HDL كروي كاذب المذيلة، ويكون مغطى بشريحة سطحية من الشحميات القطبية وصمائم البروتينات الشحمية وبهذا الشكل، فإن جملة LCAT تساهم في إزالة

الكوليسترول اللامؤستر الفائض من البروتينات الشحمية ومن الأنسجة. وغير واضح بعد ما إذا كان HDL الحقيقي أو مستقبل apo A-I موجودين فعلاً أم لا. ويبدو أن الـ HDL المحتوي apo A-I لا يؤخذ بشكل كبير من قبل الكبد. ومع هذا فالكبد هو المقر النهائي لتدرك إستر كوليستريل الـHDL. لقد افترض أن دورة HDL مسؤولة عن نقل الكوليسترول من الأنسجة إلى الكبد، وهي عملية تعرف بالنقل العكسى للكوليسترول (الشكل 27-6). وتتضمن الدورة قبط الكوليسترول وأسترته بوساطة HDL_3، الذي يصبح أكبر وأقل كثافة، فيتشكل بذلك HDL_2. ويحلمه الليباز الكبدي ثلاثي أسيل الجليسرول والشحم الفسفوري في HDL، مما يسمح (للجسيم) بأن يحرر حمولته من إستر الجليسرول إلى الكبد، وعندئذ يصبح الجسيم أكثر كثافة، ويعاد تشكيل HDL_3، الذي يدخل الدورة من جديد. إضافة إلى ذلك، يتحرر apo A-I الحر ويدخل إلى الدورة الدموية مرة أخرى، مشكلاً قبل HDL-? بعد أن يرتبط بكمية ضئيلة من الشحم الفسفوري والكوليسترول. ويعد قبل HDL-B الشكل الأكثر فعالية من الـ HDL في تحريض تدفق الكوليسترول من الأنسجة لتشكيل قرصي الشكل، الذي يأخذ بدوره كوليسترول أكثر لتشكيل HDL_3. ويتم التخلص من أي فائض من apo A-I في الكلية.

تتغير تراكيز HDL عكسيا مع تراكيز ثلاثي أسيل الجليسرول في البلازما وبشكل مباشر (طرداً) مع فعالية ليباز البروتين الشحمي. وقد يكون هذا ناجماً عن المكونات السطحية الفائضة، كالشحم الفسفوري و apo A-I عندما يتحرران في أثناء حلمهة الدقائق الكيلوسية و VLDL والتي تشارك في تشكيل قبل β- HDL و HDL القرصي. وتتناسب تراكيز HDL (HDL2) عكسياً مع حدوث تصلب الشرايين الإكليلية، من المحتمل لأنها تعكس فاعلية التقاط (كنس) الكوليسترول من الأنسجة. ويعد HDL المحتوي apo A-I فقط عاملاً وقائياً ضد التصلب العصيدي، في حين أن HDL الذي يحوي apo A-II و apo A-I لا يكون فعالاً. ويوجد HDLc (HDL_1) في دم الحيوانات المصابة بفرط كوليسترول الدم المحرض بالغذاء وهو غني بالكوليسترول، وصميمه البروتيني الشحمي الوحيد هو apo E. وهو يُقبط من قبل الكبد عن طريق مستقبل بقية apo E وكذلك بوساطة مستقبلات LDL. ولهذا السبب يشار إلى هذه الأخيرة أحياناً على أنها مستقبلات apo B- 100,E.

يبدو أن كافة البروتينات الشحمية البلازمية مكونات ذات علاقات متبادلة في واحدة أو أكثر من الحلقات الأيضية، والتي تكون كلها مسؤولة عن العملية المعقدة أي نقل الشحميات البلازمية.

يلعب الكبد دوراً رئيساً في نقل الشحميات وأيضها:

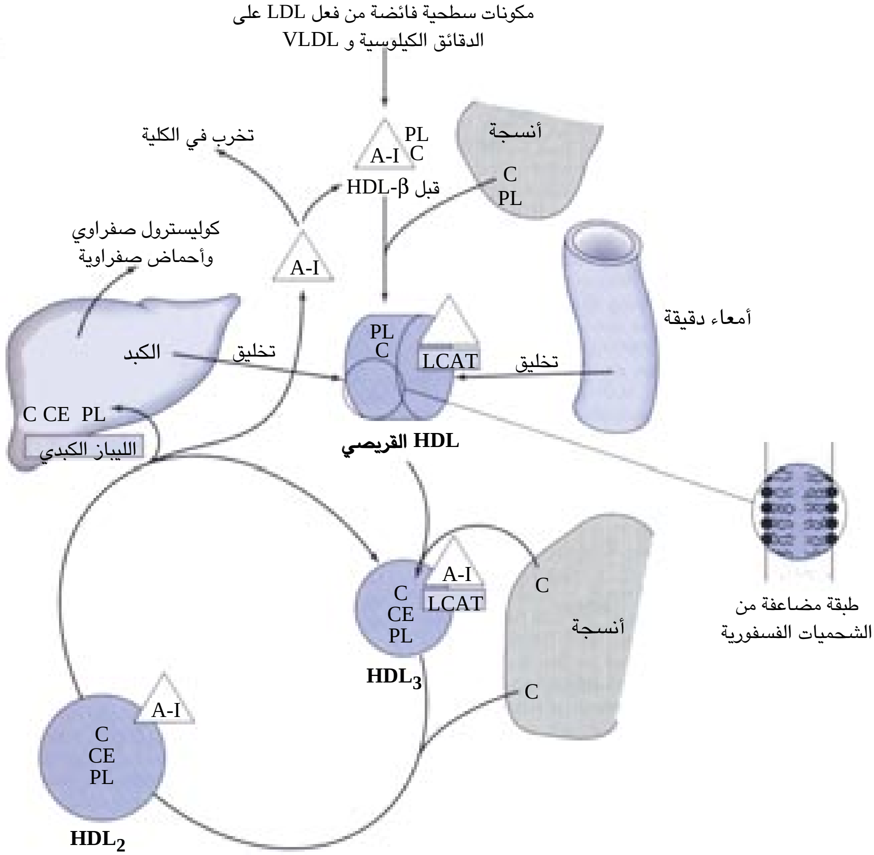
كان يعتقد فيما مضى أن معظم أيض الشحميات في الجسم كان مقصوراً على الكبد. لكن اكتشاف أن أغلب الأنسجة ذات قدرة على أكسدة الأحماض الدهنية بالكامل، وبتراكم نتائج الدراسات تبين أن النسيج الشحمي نشيط جداً أيضياً، وأدى ذلك إلى تعديل المقولات السابقة عن دور الكبد. وعلى الرغم من ذلك، فإن مفهوم الدور الرئيس والفريد للكبد في أيض الشحميات ما يزال هو الأهم. وينجز الكبد الوظائف الرئيسة التالية في أيض الشحميات:

1- يسهل هضم الشحميات وامتصاصها بإنتاجه للعصارة الصفراوية، التي تحوي الكوليسترول والأملاح الصفراوية التي يتم تخليقها في الكبد من جديد (de novo) أو من قبط كوليسترول البروتين الشحمي (الفصل 28).

2 – يمتلك الكبد جملاً إنزيمية فعالة لتخليق وأكسدة الأحماض الدهنية (الفصلان 23 و 24) ولتخليق ثلاثيات أسيل الجليسرول والشحميات الفسفورية (الفصل 26).

3 – يحول الكبد الأحماض الدهنية إلى الأجسام الكيتونية (تكون الكيتون) (الفصل 24).

4 – هو يلعب دوراً جزئياً متمماً في تخليق البروتينات الشحمية البلازمية وأيضها (هذا الفصل).

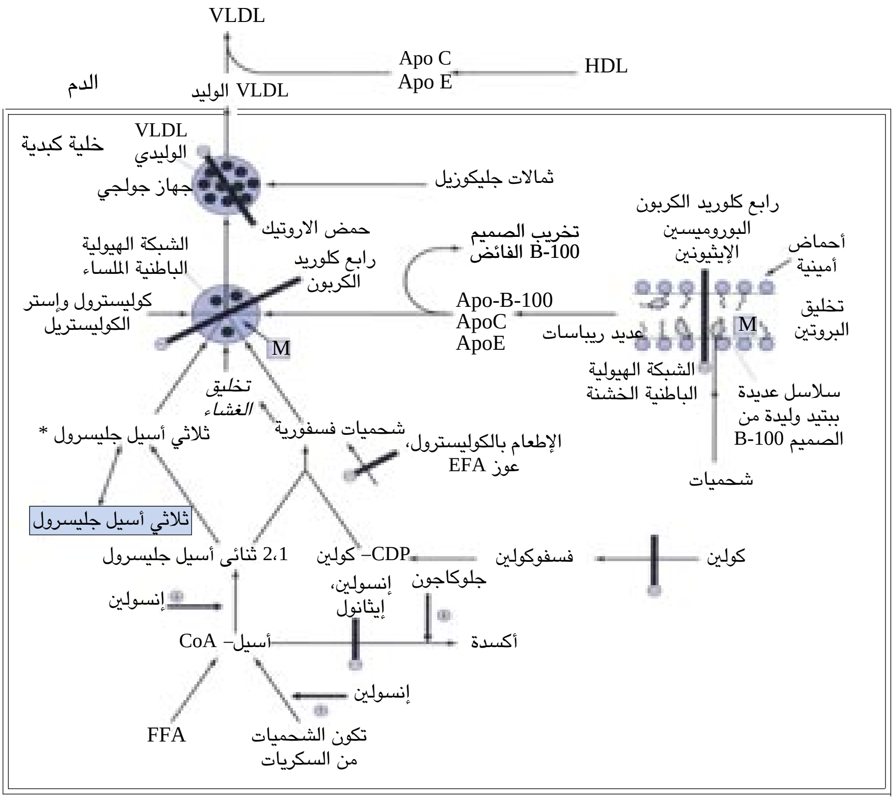


الشكل 27-6 : أيض البروتين الشحمي رفيع الكثافة (HDL) في عملية النقل العكسي للكوليسترول. (LCAT: ناقلة أسيل ليسيثين: كوليسترول؛ LPL: ليباز البروتين الشحمي؛ C كوليسترول؛ CE:إسترالكوليستريل؛ PL: شحم فسفوري؛ A-I: صميم البروتين الشحمي A-I.) يوضح الشكل دور ثلاثة إنزيمات هي اللبياز الكبدي وLCAT وليباز البروتين الشحمي في دورة الـ HDL لنقل الكوليسترول من الأنسجة إلى الكبد (النقل العكسي للكوليسترول) انظر الجدول 27-2 من أجل HDL– قبل و HDL2وHDL3.

وبالإضافة إلى ثلاثي أسيل الجليسرول، يقوم اللبياز الكبدي بحلمهة الشحميات الفسفورية على سطح HDL2 محرراً بذلك الكوليسترول وإستر الكوليستريل لكي يقبطها الكبد، مما يسمح بتشكيل الـ HDL3 الأصغر والأكثر كثافة إلى جانب الصميم A-I الحر. وتزداد فعالية اللبياز الكبدي بتأثير الأندروجينات وتتناقص بفعل الإستروجينات، التي قد تكون مسؤولة عن التراكيز المرتفعة من HDL2 في بلازما النساء.

يتعلق إفراز VLDL الكبدي بالحالة الغذائية والهرمونية:

لقد وصفت أعلاه الأحداث الخلوية المساهمة في تشكيل VLDL وإفرازه. وتكون ثلاثيات أسيل الجليسرول (الجليسرولات ثلاثية الأسيل) الكبدية الطلائع المباشرة لثلاثيات أسيل الجليسرول الموجودة في VLDL البلازمي (الشكل 27-7). ويوفر تخليق ثلاثي أسيل الجليسرول تنبيهاً مباشراً لتشكيل VLDL وإفرازه. وتشتق الأحماض الدهنية المستخدمة في تخليق الجليسرولات ثلاثية الأسيل في الكبد من مصدرين محتملين: (1) التخليق في الكبد من أسيتيل CoA المشتق بشكل رئيس من السكريات (ربما هذا المصدر ليس مهماً كثيراً عند الإنسان) و (2) قبط الأحماض الدهنية الحرة من الدورة الدموية. ويسود المصدر الأول في حالة الإطعام الجيد، حيث يكون تخليق الأحماض الدهنية مرتفعاً ومستوى الأحماض الدهنية الحرة منخفضاً في الدوران. وبما أن ثلاثي أسيل الجليسرول لا يتراكم بالحالة السوية في الكبد عند هذا الظرف، فيستدل من ذلك أنه يُنقل من الكبد في VLDL بسرعة حالما يتم تخليقه وبأن تخليق apo B-100 لا يكون محدداً لمعدل التخليق. من جانب آخر، إن الذي يحدث في أثناء الصيام، أو خلال الإطعام بغذاء غني بالدهون، أو في الداء السكري حيث يكون مستوى الأحماض الدهنية الحرة في الدوران مرتفعاً ويزال الكثير منها إلى الكبد. وعند مثل هذه الظروف يكون تكون الشحم مثبطاً وتبقى الأحماض الدهنية الحرة المصدر الرئيس للأحماض الدهنية بثلاثي أسيل الجليسرول في الكبد و VLDL. وقد وصفت الآليات الإنزيمية المسؤولة عن تخليق الجليسرولات ثلاثية الأسيل والشحميات الفسفورية في الفصل 26. وتشمل العوامل التي تعزز كلاً من تخليق ثلاثي أسيل الجليسرول وإفراز VLDL من قبل الكبد على ما يلي: (1) حالة الإطعام بدلاً من حالة الصيام؛ (2) الإطعام بغذاء غني بالسكريات (بخاصة إذا كان الغذاء يحوي السكروز أو الفركتوز)، وهذا يؤدي إلى معدلات مرتفعة من تكون الشحم وأسترة الأحماض الدهنية؛ (3) مستويات عالية من الأحماض الدهنية الحرة في الدم؛ (4) تناول الإيثانول؛ و (5) وجود تراكيز مرتفعة من الإنسولين وتراكيز منخفضة من الجلوكاجون، التي تعزز تخليق الأحماض الدهنية وأسترتها وتثبيط أكسدتها.



الشكل 7-27 : تخليق البروتين الشحمي وضيع الكثافة (VLDL) في الكبد والمواضع المحتملة لفعل العوامل المسببة لتراكم ثلاثي أسيل الجليسرول والكبد الدهني. (EFA: أحماض دهنية أساسية؛ FFA:أحماض دهنية حرة؛ HDL: بروتينات شحمية رفيعة الكثافة؛ Apo: صميم بروتين شحمي؛ M: البروتين الناقل لثلاثي أسيل الجليسرول في الجسيمات الصغرية.) تشكل السبل المشار إليها أساساً للأحداث المذكورة في الشكل 27-3. لا تكون جميعة «ثلاثي أسيل الجليسرول» الرئيسية في الكبد واقعة في السبيل المباشر لتخليق VLDLمن أسيل -CoA. لذلك فإن لكل من FFA والإنسولين والجلوكاجون تأثيرات مباشرة في إفراز VLDL على غرار تأثيراتها في التعدي بشكل مباشر على جميعة طليعة ثلاثي أسيل الجليسرول الصغيرة (*). ويتم تخليق الصميم B-100، في حالة الإطعام الكامل، بشكل زائد عن احتياجات إفراز الـ VLDL ويُخرب الفائض منها في الكبد. وقد تمر بعض الشحميات في أثناء ترجمة الصميم B-100 خلال غشاء الشبكة الهيولية الباطنية الخشنة وتصبح مرتبطة مع السلسلة الوليدة عديدة الببتيد في وجود البروتين الناقل لثلاثي أسيل الجليسرول. ويبدو أن مقداراً كبيراً من الشحميات تتم إضافتها في أثناء المرور خلال الشبكة الباطنية الملساء.

المظاهر السريرية:

يسبب اللاتوازن في معدل تشكيل أسيل الجليسرول وتصديره حالة الكبد المدهنة (تشحم الكبد)

يمكن للشحميات، بشكل رئيسي كثلاثي أسيل الجليسرول، أن تتراكم في الكبد لأسباب مختلفة (الشكل 27-7)، وينظر إلى التراكم المفرط كحالة مرضية. فعندما يصبح تراكم الشحميات في الكبد مزمناً، تحدث تبدلات تليفية في الخلايا والتي تتطور إلى التشمع (Cirrhosis) وتتضرر الوظيفة الكبدية.

تصنف حالات الكبد المدهنة في مجموعتين رئيستين. يكون النمط الأول مترافقاً مع مستويات مرتفعة من الأحماض الدهنية الحرة البلازمية والناتجة عن تحريك الدهون من النسيج الشحمي أو من حلمهة ثلاثي أسيل جليسرول البروتين الشحمي بتأثير ليباز البروتين الشحمي في الأنسجة غير الكبدية. وتقبط الكميات الزائدة من الأحماض الدهنية الحرة من قبل الكبد وتؤستر. ولا يجاري إنتاج VLDL تدفق الأحماض الدهنية الحرة، مما يسمح بتراكم ثلاثي أسيل الجليسرول، مسبباً بذلك الكبد المدهنة. وتزداد كمية ثلاثي أسيل الجليسرول، الموجودة في الكبد بشكل كبير في أثناء الجوع والإطعام بغذاء غني بالدهون. وفي حالات عديدة (كما في الجوع)، تضطرب أيضاً القدرة على إفراز VLDL. وقد يكون هذا ناجماً عن المستويات المنخفضة من الإنسولين واضطراب تخليق البروتينات. وفي الداء السكري غير المراقب، والانسمام الحملي (Pregnancy Toxemia)عند النعاج، وفي فرط كيتون الجسم عند قطعان الماشية، يكون الارتشاح الدهني شديداً بما يكفي ليسبب شحوباً واضحاً (المظهر المدهن) وتضخم الكبد مع احتمال قصور بوظيفة الكبد.

ينتج النمط الثاني من الكبد المدهنة عادة عن إحصار أيضي في إنتاج البروتينات الشحمية البلازمية، وهذا بالتالي يسمح بتراكم ثلاثي أسيل الجليسرول. وقد تكون الآفة ناجمة نظرياً عن (1) إحصار في تخليق صميم البروتين الشحمي، أو (2) إحصار في تخليق البروتين الشحمي من الشحميات وصميم البروتين الشحمي، أو (3) قصور في توفير الشحميات الفسفورية التي توجد في البروتينات الشحمية، أو (4) قصور في آلية الإفراز بحد ذاتها.

هناك نمط من الكبد المدهنة درس بشكل مستفيض عند الجرذان وهو ناجم عن عوز في الكولين، والذي أطلق عليه بناء على ذلك تسمية العامل مضاد التشحم (Lipotropic factor) وبما أنه يمكن تخليق الكولين باستخدام زمر ميثيلية مقلقلة (غير مستقرة) يقدمها الميثيونين في عملية نقل الميثيل (Transmethylation) (الفصلان 32 و 33)، فإن العوز ناتج بشكل أساسي عن نقص في نمط الزمرة الميثيلية الممنوحة من الميثيونين. وقد افترضت عدة آليات لتفسير دور الكولين كعامل مضاد للتشحم، من بينها فقدانه الذي يسبب تضرراً في تخليق الشحميات الفسفورية بالبروتين الشحمي.

يثبط المضاد الحيوى البيوروميسين (Puromycin) تخليق البروتين ويسبب الكبد المدهنة وتناقصاً ملحوظاً في تركيز VLDL لدى الجرذان. ونذكر من المواد الأخرى التي تؤثر على نحو مماثل: الإثيونين (حمض α ـ أمينو ـ γ ـ مركبتوبوتيريك) ورباعي كلور الكربون والكلوروفورم والفسفور والرصاص والزرنيخ. من جانب آخر، إن الكولين لا يقي الكائن الحي من هذه العوامل لكنه يبدي المساعدة في الشفاء. ومن المحتمل جداً أن يؤثر رباعي كلور الكربون أيضاً في آلية الإفراز بحد ذاتها أو في اقتران الشحميات مع صميم البروتين الشحمي. ويكون تأثيره غير مباشر لكنه يعتمد على تحول تال في الجزيء. وهذا يتضمن على الأرجح تشكل الجذور الحرة التي تخرب الأغشية الشحمية في الشبكة الهيولية الباطنية عن طريق تشكيل البيروكسيدات الشحمية. وتتوافر بعض الحماية من الأكسدة الفائقة للشحميات المحرضة برباعي كلور الكربون بفضل الفعل المضاد للتأكسد (Antioxidant) للغذاء المدعوم بالڤيتامين E. ويعتقد أن تأثير الإثيونين ناتج عن تناقص إتاحة الـATP. وينجم هذا عندما يحل الإثيونين مكان الميثيونين في S ـ أدينوزيل ميثيونين، فيحتجز بذلك الأدينين المتوافر ويمنع تخليق الـATP. ويسبب حمض الأوروتيك كذلك الأكباد المدهنة؛ فعندما يتراكم VLDL في جهاز جولجي، يعتقد أن حمض الأوروتيك يتداخل مع عملية ضم الجليكوزل بالبروتين الشحمي، فيثبط بذلك تحريره، ويكون مسؤولاً عن التناقص الواضح في البروتينات الشحمية المحتوية apo B.

يعزز عوز الڤيتامين E النخر الكبدي في الكبد المدهنة من نمط عوز الكولين. ويكون لإضافة الڤيتامين E أو مصدر من السيلينيوم تأثير وقائي بمقاومة الأكسدة

الفائقة للشحميات. وبالإضافة إلى العوز البروتيني، فإن حالات عوز الأحماض الدهنية الأساسية (الضرورية) والڤيتامينات (كحمض اللينولييك والبيريدوكسين وحمض البانتوثينيك) يمكن أن تسبب الارتشاح الدهني في الكبد. ويعتقد أن عوز الأحماض الدهنية الأساسية يكظم تخليق الشحميات الفسفورية؛ لذلك، فإن مواداً أخرى كالكوليسترول، الذي يتنافس مع الأحماض الدهنية الأساسية المتوافرة على عملية الأسترة، يمكن أن تسبب أيضاً الأكباد المدهنة.

يسبب الإيثانول أيضاً الكبد المدهنة:

تؤدي الكحولية (Alcoholism) إلى تراكم الدهون في الكبد ثم فرط شحميات الدم وبالنهاية إلى تليف الكبد. وما تزال الآلية الدقيقة لتأثير الإيثانول على المدى الطويل غير مؤكدة. وغير واضح فيما إذا كان تحريك أحماض دهنية حرة إضافية يلعب دوراً ما في التسبب بتراكم الدهون أم لا، لكن تبين من الدراسات العديدة وجود مستويات مرتفعة من الأحماض الدهنية الحرة في الجرذان بعد إعطائها جرعة وحيدة سامة من الإيثانول. من ناحية ثانية، يؤدي استهلاك الإيثانول لفترة طويلة من الزمن إلى تراكم الأحماض الدهنية في الكبد والتي تكون مشتقة من التخليق داخلي المنشأ وليس من النسيج الشحمي. ولا يوجد اضطراب في تخليق البروتينات في الكبد بعد تناول الإيثانول. ويتوافر دليل جيد عن تزايد تخليق ثلاثي أسيل الجليسرول في الكبد وتناقص أكسدة الأحماض الدهنية وانخفاض فاعلية دورة حمض السيتريك، والناجمة عن أكسدة الإيثانول في العصارة الخلوية الكبدية بوساطة نازعة هيدروجين الكحول مما يؤدي إلى فرط إنتاج الـ NADH.



يتنافس الـNADH المتولد مع المكافئات المرجعة الناتجة عن ركائز أخرى على السلسلة التنفسية، مثبطاً بذلك أكسدتها. ويسبب ارتفاع نسبة [NADH] إلى

[NAD^+] انزياحاً إلى اليسار في التوازن مالات $\rightleftharpoons$ أكسالوأسيتات، والذي قد ينقص فعالية دورة حمض السيتريك. إن التأثير الصافي لتثبيط أكسدة الأحماض الدهنيـة هو في التـسـبب بزيادة أسـتـرة الأحـمـاض الدهنيـة في ثلاثي أسـيل الجليسرول، الذي يبدو أنه السبب في حدوث الكبد المدهنة. تؤدي أكسدة الإيثانول إلى تشكيل الأسيتاألدهيد، الذي يتأكسد بنازعة هيدروجين الألدهيد، التي تسود في المتقدرات، وتكون الأسيتات هي الناتج النهائي. وقد تشتمل التأثيرات الأخرى للإيثانول ازدياداً في كل من تكون الشحم وتخليق الكوليستـرول بدءاً من أسيتيل CoA-. ويسبب ارتفاع نسبة [NADH] إلى [NAD^+] أيضاً ارتفاع نسبة [لاكتات] إلى [بيروفات] التي تؤدي إلى فرط حمض اللاكتيك في الدم، وهذا يقود بدوره إلى تناقص سعة الكلية على إفراغ حمض البوليك. حيث يعد هذا الأخير على الأرجح السبب في تفاقم النقرس بشرب الكحول. وعلى الرغم من أن السبيل الرئيس لأيض الإيثانول هو عن طريق نازعة هيدروجين الكحول، إلا أن البعض منه يستقلب عن طريق جملة أكسدة الإيثانول المعتمدة على السيتوكروم P450 في الجسيمات الصغرية (MEOS)، التي تتضمن NADH و O_2. وتزداد فعالية هذه الجملة في الكحولية المزمنة وقد تكون مسؤولة عن ازدياد التصفية الأيضية في هذه الحالة حيث يتجلى ذلك بازدياد مستويات كل من الأسيتالدهيد والأسيتات في الدم. ويثبط الإيثانول أيضاً أيض بعض الأدوية، مثل الباربيتورات، عن طريق التنافس على الإنزيمات المعتمدة على السيتوكروم P_{450} (الفصل 16).

$$CH_3 - CH_2 - OH + NADPH + H^+ + O_2 \longrightarrow CH_3 - CHO + NADP^+ + 2H_2O$$

توجد نازعة هيدروجين الكحول كذلك في مخاطية المعدة لكنها تكون بفاعلية أقل بنحو 60٪ عند النساء منها عند الرجال. وقد تكون زيادة إتاحية الإيثانول الناجمة عن تناقص استخدامه في المعدة مسؤولة عن ازدياد حساسية النساء لتأثيرات استهلاك الايثانول. وتكون بعض الشعوب الآسيوية وسكان أمريكا الأصليين، بعد استهلاكهم للكحول، عرضة لازدياد التفاعلات الضارة للأسيتالدهيد بسبب وجود عيب وراثي (جيني) في نازعة هيدروجين الألدهيد المتقدرية.

النسيج الشحمي هو المخزن الرئيسي لثلاثي أسيل الجليسرول في الجسم:

تخضع مخازن ثلاثي أسيل الجليسرول في النسيج الشحمي بشكل متواصل لتحلل الشحم (الحلمهة) ولإعادة الأسترة (الشكل 27-8). وهاتان العمليتان ليستا الطورين الأمامي (المباشر) والعكسي للتفاعل نفسه. بل أنهما سبيلان مختلفان تماماً يتضمنان متفاعلات وإنزيمات مختلفة. وهذا يسمح للعديد من العوامل التغذوية والأيضية والهرمونية التي تنظم أيض النسيج الشحمي بأن تعمل إما على عملية الأسترة أو على تحلل الشحم. ويحدد ناتج هاتين العمليتين مقدار جميعة الأحماض الدهنية الحرة في النسيج الشحمي، التي تعد بدورها مصدراً ومحدداً لمستوى الأحماض الدهنية الحرة التي تجول في البلازما. ونظراً لأن مستوى الأحماض الدهنية الحرة البلازمية يتمتع بمعظم التأثيرات العميقة على أيض الأنسجة الأخرى، لا سيما الكبد والعضلات، فإن العوامل التي تعمل في النسيج الشحمي تنظم تدفق الأحماض الدهنية الحرة تبدي تأثيراً يصل إلى ما أبعد من النسيج الشحمي بحد ذاته.

ينظم توفير الجليسرول 3- فسفات عملية الأسترة: يراقب تحلل الشحم بالليباز الحساس للهرمون:

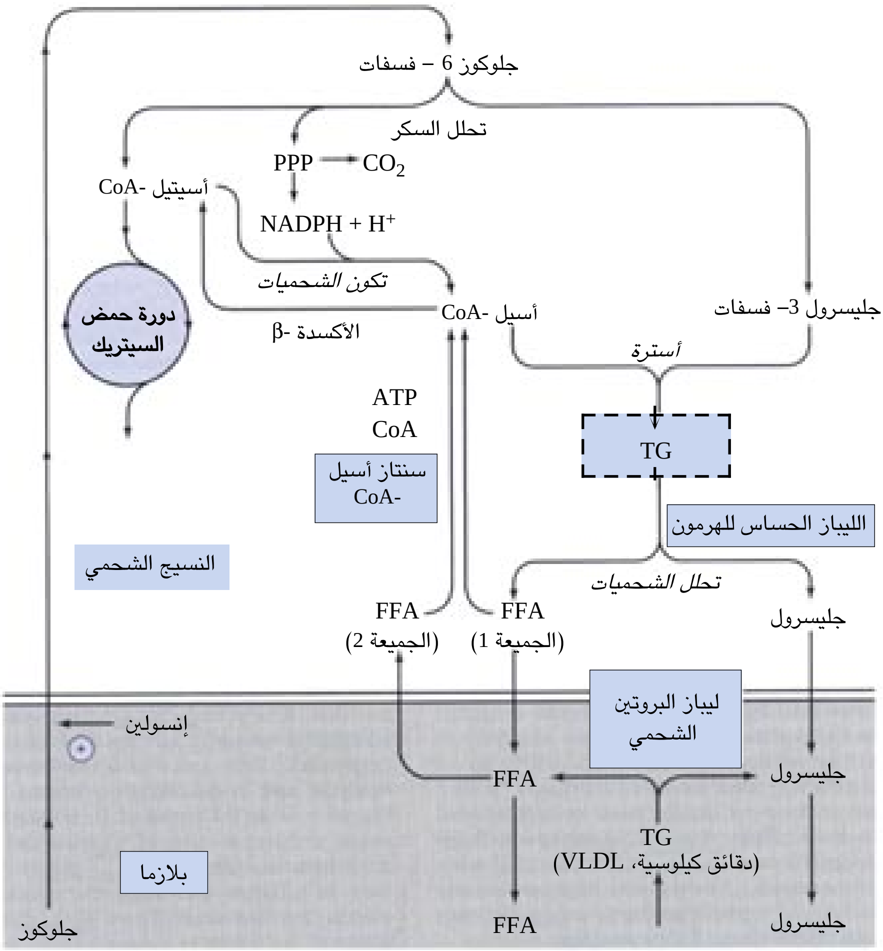
يتم تخليق ثلاثي أسيل الجليسرول في النسيج الشحمي بدءاً من أسيل -CoA وجليسرول 3- فسفات وفقاً للآلية المبينة في (الشكل 26-2). ونظراً لأنه لا يتم التعبير عن إنزيم كيناز الجليسرول في النسيج الشحمي، فإنه لا يمكن استعمال الجليسرول في أسترة أسيل -CoA. ولتأمين الجليسرول 3- فسفات يعتمد النسيج على تحلل السكر وتوفير الجلوكوز عن طريق النواقل $GlUT_1$ و $GlUT_4$.

يخضع ثلاثي أسيل الجليسرول للحلمهة بالليباز الحساس للهرمون (Hormone - sensitive lipase) فتتشكل أحماض دهنية حرة وجليسرول. ويتميز هذا الليباز عن

ليباز البروتين لشحمي، الذي يحفز حلمهة ثلاثي أسيل جليسرول البروتين الشحمي قبل قبطه للأنسجة غير الكبدية (انظر أعلاه). ونظراً لأنه لا يمكن استعمال الجليسرول في هذا النسيج، فهو ينتشر خارجاً إلى البلازما، حيث يستخدم من قبل أنسجة كالكبد والكلية، التي تمتلك كيناز جليسرول فعالاً. ويمكن للأحماض الدهنية الحرة المتشكلة عن تحلل الشحم أن تتحول من جديد في النسيج إلى أسيل -CoA بوساطة سنتاز (مخلقة) أسيل -CoA وأن تعاد أسترتها بجليسرول 3–فسفات لتشكيل ثلاثي أسيل الجليسرول. وبهذا الشكل، توجد دورة مستمرة من تحلل الشحم وإعادة الأسترة ضمن النسيج. إلا أنه عندما يكون معدل إعادة الأسترة غير كاف للتناسب مع معدل تحلل الشحم، تتراكم الأحماض الدهنية الحرة وتنتشر إلى البلازما، حيث ترتبط بالألبومين ويرتفع تركيز الأحماض الدهنية الحرة البلازمية: وهذه هي أهم مصدر للوقود للعديد من الأنسجة.

ينقص ازدياد أيض الجلوكوز أنتاج الأحماض الدهنية الحرة:

يتناقص تدفق الأحماض الدهنية الحرة عندما يزداد استعمال الجلوكوز في النسيج الشحمي. إلا أنه يستمر تحرير الجليسرول، مما يدل على أن تأثير الجلوكوز غير متواسط بانخفاض معدل تحلل الشحم. ويعتقد أن التأثير ناجم عن توفير الجليسرول 3–فسفات، الذي يعزز أسترة الأحماض الدهنية الحرة بأسيل -CoA. يمكن للجلوكوز أن يسلك سبلاً متعددة في النسيج الشحمي، التي تشمل التأكسد إلى CO_2 عن طريق دورة حمض السيتريك، والأكسدة في سبيل فسفات البنتوز، والتحول إلى أحماض دهنية طويلة السلسلة، وتشكيل أسيل الجليسرول عن طريق الجليسرول 3 ـ فسفات. وعندما يكون استعمال الجلوكوز عالياً، فإن نسبة كبيرة من القبط يتأكسد إلى CO_2 ويتحول إلى أحماض دهنية. ومن ناحية ثانية، عندما يتناقص الاستخدام الإجمالي للجلوكوز، فإن نسبة كبيرة من الجلوكوز تتجه لتشكيل الجليسرول 3 ـ فسفات لأسترة أسيل -CoA، الذي يساعد في جعل تدفق الأحماض الدهنية الحرة في الحدود الدنيا.



الشكل 27-8 : أيض النسيج الشحمي. يتنشط الليباز الحساس للهرمون بوساطة كل من ACTH و TSH والجلوكاجون وإبينفرين والفازو بريسين ويتثبط بالإنسولين وبالبروستاجلاندين E_1 و حمض النيكوتينيك. ويبين الشكل 26-2 تفاصيل تشكيل جليسرول 3–فسفات من متوسطات تحلل السكر. (PPP: سبيل فسفات البنتوز ، TG: ثلاثي أسيل جليسرول؛ FFA: أحماض دهنية حرة؛ VLDL:البروتين الشحمي وضيع الكثافة).

تقبط الأحماض الدهنية الحرة كنتيجة لفاعلية ليباز البروتين الشحمي:

توجد أكثر من جميعة للأحماض الدهنية الحرة في النسيج الشحمي. فقد تبين أن جميعة الأحماض الدهنية الحرة (الشكل 27-8، الجميعة 1) المتشكلة عن تحلل ثلاثي أسيل الجليسرول هي الجميعة ذاتها التي تؤمن الأحماض الدهنية لإعادة الأسترة؛ وتحررهم أيضاً إلى الوسط الخارجي (البلازما). من جانب آخر لا تصنف الأحماض الدهنية، المقبوطة من الوسط الخارجي كنتيجة لفعل ليباز البروتين الشحمي على ثلاثي أسيل جليسرول الدقائق الكيلوسية و VLDL، ضمن (الجميعة 1) قبل أن يتم انجبالها بثلاثي أسيل الجليسرول، لكنها تجول بوساطة جميعة صغيرة (الجميعة 2) ذات معدل التقلُّب المرتفع.

تنظم الهرمونات تحريك الدهون:

يخفض الإنسولين نتاج الأحماض الدهنية الحرة:

يتأثر معدل تحرر الأحماض الدهنية الحرة من النسيج الشحمي بعدة هرمونات تؤثر إما في معدل الأسترة أو في معدل تحلل الشحم. ويثبط الإنسولين تحرير الأحماض الدهنية الحرة من النسيج الشحمي، ويتبع ذلك انخفاض في مستوى الأحماض الدهنية الحرة الجائلة في البلازما. وهو يعزز تكون الشحم وتخليق أسيل الجليسرول ويزيد أكسدة الجلوكوز إلى CO_2 في سبيل فسفات البنتوز. وتعتمد كافة هذه التأثيرات على وجود الجلوكوز، ويمكن تفسيرها، إلى حد كبير، على أساس قدرة الإنسولين في تعزيز قبط الخلايا الشحمية للجلوكوز عن طريق الناقل $GlUT_4$. وتبين أن الإنسولين يرفع كذلك فعالية كل من نازعة هيدروجين البيروفات وكربوكسيلاز أسيتيل -CoA وناقلة أسيل الجليسرول فسفات، التي يمكن أن تعزز التأثيرات الناشئة عن ازدياد قبط الجلوكوز فيما يتعلق بزيادة تخليق كل من الأحماض الدهنية وأسيل الجليسرول. ومن المعروف الآن أنه يتم تنظيم هذه الإنزيمات الثلاث بأسلوب متناسق عن طريق التعديل التكافؤي (التساهمي)، أي بآليات الفسفتة ونزع الفسفات.

إن الفعل الأساسي للإنسولين في النسيج الشحمي هو تثبيط فاعلية الليباز الحساس للهرمون، مخفضاً بذلك تحرير ليس فقط الأحماض الدهنية الحرة بل والجليسرول أيضاً. والنسيج الشحمي أكثر حساسية للإنسولين من أي نسيج آخر، وهذا يدل على أن النسيج الشحمي هو المقر الرئيسي لفعل الإنسولين داخل الجسم.

تعَزِّز هرمونات عديدة تحلل الشحم:

تقوم هرمونات أخرى بتسريع تحرير الأحماض الدهنية الحرة من النسيج الشحمي وترفع تركيزها في البلازما بزيادة معدل تحلل الشحم في مخازن ثلاثي أسيل الجليسرول (الشكل 27-9). وتشمل هذه الهرمونات كل من الإبينفرين والنورإبينفرين والجلوكاجون والهرمون موجه قشر الكظر (ACTH) والهرمونين المنبهين للخلايا الميلانية و (MSH) والهرمون المنبه للدرقية (TSH) وهرمون النمو (GH) والڤازوبريسين. حيث أن العديد من هذه الهرمونات ينشط الليباز الحساس للهرمون. وللحصول على التأثير الأمثل، تحتاج معظم هذه العمليات الحالة للشحم لوجود القشرانيات السكرية والهرمونات الدرقية. إلا أن هذه الهرمونات المهمة لا تقوم بحد ذاتها بزيادة تحلل الشحم على نحو ملحوظ لكنها تعمل كسعة تسهيل أو تيسير فيما يتعلق بعوامل صماوية أخرى حالة للشحم.

إن الهرمونات التي تؤثر بشكل سريع في تحريض تحلل الشحم، أي الكاتيكولامينات، إنما تفعل ذلك بتنبيهها لفعالية سيكلاز الأدينيليل (محلقة الأدينيلات)، وهو الإنزيم الذي يحول ATP إلى cAMP. وتكون الآلية مماثلة لتلك المسؤولة عن التحريض الهرموني لتحلُّل الجليكوجين (الفصل 20). ويبدو أن cAMP، بتنبيهه للكيناز البروتيني المعتمد على cAMP، يحول ليباز ثلاثي أسيل الجليسرول الحساس للهرمون غير الفعال إلى ليباز فعال. ويراقب تحلل الشحم بشكل كبير بكمية cAMP الموجودة في النسيج. وبالنتيجة فإن تلك العمليات التي تحطم أو تحفظ cAMP لها تأثير على تحلل الشحم. ويتدرك cAMP إلى 5´-AMP

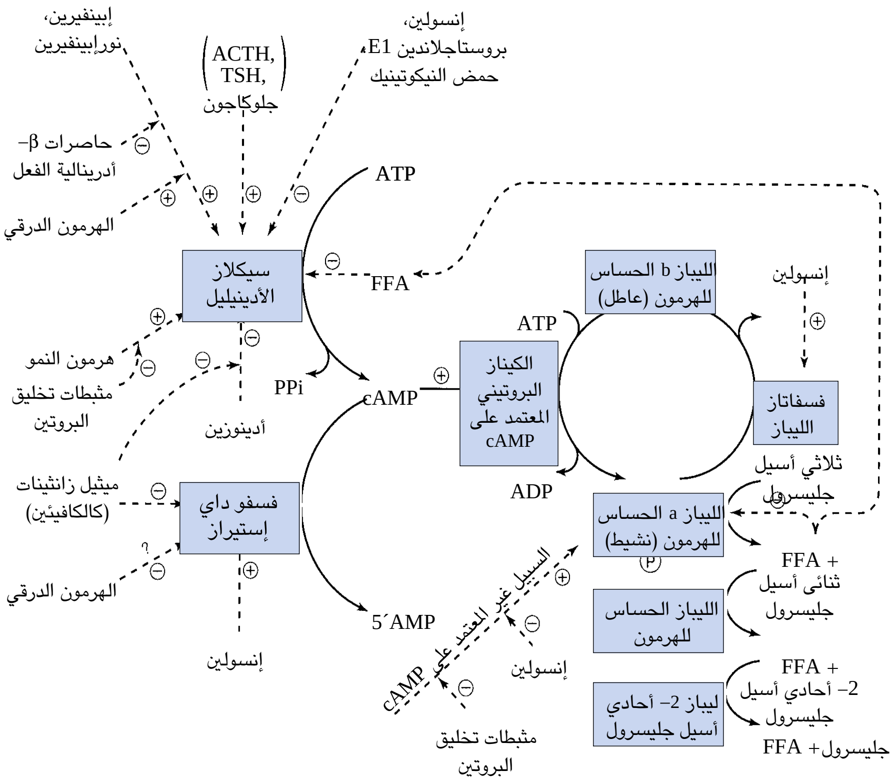
بإنزيم فسفو داي استيراز 3´، 5´ ـ النوكليوتيد الحلقي. ويتثبط هذا الإنزيم بمركبات ميثيل الزانثينات مثل الكافين والثيوفيللين. الجدير بالذكر أن شرب القهوة المحتوية الكافيين، يسبب ارتفاع مستوى FFA في بلازما الإنسان.

يقاوم الإنسولين تأثير الهرمونات الحالة للشحم. ويعتقد الآن أنه قد تكون حساسية تحلل الشحم تجاه التبدلات في تركيز الإنسولين أكثر مما هي عليه بالنسبة لاستعمال الجلوكوز وللأسترة. وقد تكون التأثيرات المضادة لتحلل الشحم لكل من الإنسولين وحمض النيكوتين والبروستاجلاندين E_1 مسؤولة عن ذلك بتثبيطها تخليق cAMP عند موقع سكيلاز الأدينيليل، الذي يعمل من خلال البروتين Gi. وينبه الإنسولين كذلك فسفو داي أستيراز وفسفاتاز الليباز الذي يعطل (يزيل فاعلية) الليباز الحساس للهرمون.

وتتضمن الآليات المحتملة لفعل الهرمونات الدرقية ازدياداً في مستوى cAMP بتسهيل مرور التنبيه من الموقع المستقبل على الجانب الخارجي من الغشاء الخلوي إلى موقع سيكلاز الأدينيليل على الجانب الداخلي من الغشاء وتثبيطاً لفاعلية الفسفو دي استيراز. أما تأثير هرمون النمو في تحريض تحلل الشحم فهو ضئيل. حيث يعتمد على تخليق البروتينات المشاركة في تشكيل cAMP.

وتنبه القشرانيات السكرية تحلل الشحم عن طريق تخليق بروتين ليباز جديد بسبيل غير معتمد على cAMP، والذي قد يتثبط بالإنسولين وكذلك بتحريض انتساخ الجينات المساهمة في شلال إشارة الـ cAMP. وتساعد هذه المعطيات في فهم دور كل من الغدة النخامية وقشر الكظر في تعزيز تحريك الدهون.

تلعب الجملة العصبية الودية، من خلال تحرير النورإبينفرين في النسيج الشحمي، دوراً أساسياً في تحريك الأحماض الدهنية الحرة بإظهار تأثير منشط حتى في غياب النشاط العصبي المعزز. وبهذا الشكل، فإنه يمكن إنقاص أو إلغاء ازدياد تحلل الشحم الناجم عن العديد من العوامل المذكورة أعلاه عن طريق إزالة التعصيب (Denervation) في النسيج الشحمي، أو عن طريق الإحصار العقدي بالهكساميثونيوم، أو باستنزاف مخازن النورإبينفرين بالرزربين (Reserpine).



الشكل 27-9 : مراقبة تحلل الشحميات في النسيج الشحمي. (TSH: الهرمون المنبه للدرقية؛ FFA: أحماض دهنية حرة). لاحظ تسلسل التفاعلات بشكل شلال، مما يسبب تضخيماً للفعل عند كل خطوة. يتوقف التنبيه الحال للشحم بإزالة كل من الهرمون المنبه؛ وفعل فسفاتاز الليباز؛ وتثبيط الليباز وسيكلاز الأدينيليل عن طريق التراكيز المرتفعة من FFA؛ وتثبيط سيكلاز الأدينيليل بالأدينوزين؛ وإزالة cAMP بفعل الفسفو داي إستيراز. قد لا يقوم كل من ACTH و TSHوالجلوكاجون بتنشيط سيكلاز الأدينيليل في الأحياء، لأن التركيز اللازم في المختبر من كل هرمون يكون أكبر بكثير من ذلك الموجود في الدوران. جرى تمثيل التأثيرات التنظيمية الموجبة (+) والسالبة (−) بخطوط متقطعة، أما تدفق الركيزة فبخطوط عادة.

تطورت آليات مختلفة عديدة من أجل المراقبة الدقيقة لأيض النسيج الشحمي:

قد لا يكون النسيج الشحمي عند الإنسان مقراً مهماً لتكون الشحميات. وتبين ذلك من ملاحظة أنه لا يحدث انجبال معتبر للوسم ضمن أحماض دهنية طويلة السلسلة وذلك من الجلوكوز أو البيروڤات الموسومين. واتضح أن ليـاز ATP - سيترات، وهو إنزيم أساسي في سبيل تكون الشحميات، لا يكون موجوداً وله فاعلية منخفضة جداً في الكبد. أما الإنزيمات الأخرى، كنازعة هيدروجين جلوكوز –6– فسفات وإنزيم الماليك، التي تخضع عند الجرذان لتبدلات تلاؤمية متوافقة مع ازدياد تكون الشحميات، فلا تخضع لمثل تلك التبدلات في النسيج الشحمي عند الإنسان. وبالفعل، فقد اقترح أنه يوجد عند الإنسان «متلازمة فرط السكريات» الناجمة عن قصور استثنائي في القدرة على التخلص من السكريات الفائضة عن طريق تكون الشحميات. ويقتصر تكوّن الشحميات عند الطيور على الكبد، حيث يكون مهماً على نحو خاص في توفير الشحميات لتشكيل البيض، المنبه بالإستروجينات.

لا يستجيب النسيج الشحمي عند الإنسان لمعظم الهرمونات الحالة للشحم باستثناء الكاتيكولامينات والأمر المثير الآخر هو فقدان الاستجابة الحالة للشحم تجاه الإبينفرين عند كل من الأرنب وخنزير غينيا والخنزير والدجاج، ويكون تأثير الجلوكاجون الحالّ للشحم واضحاً عند الطيور علاوة عن غياب أي تأثير للإنسولين مضاد لتحلل الشحم.

إذا أخذنا في الحسبان الخلل العميق في الأيض عند المصابين (الذي ينجم بشكل رئيسي عن ازدياد تحرر الأحماض الدهنية الحرة من المخازن) والحقيقة القائلة أن الإنسولين يصحح الحالة بدرجة كبيرة، فينبغي أن نستنتج بأن الإنسولين يلعب دوراً جلياً في تنظيم أيض النسيج الشحمي.

يحرض النسيج الشحمي الأسمر توليد الحرارة:

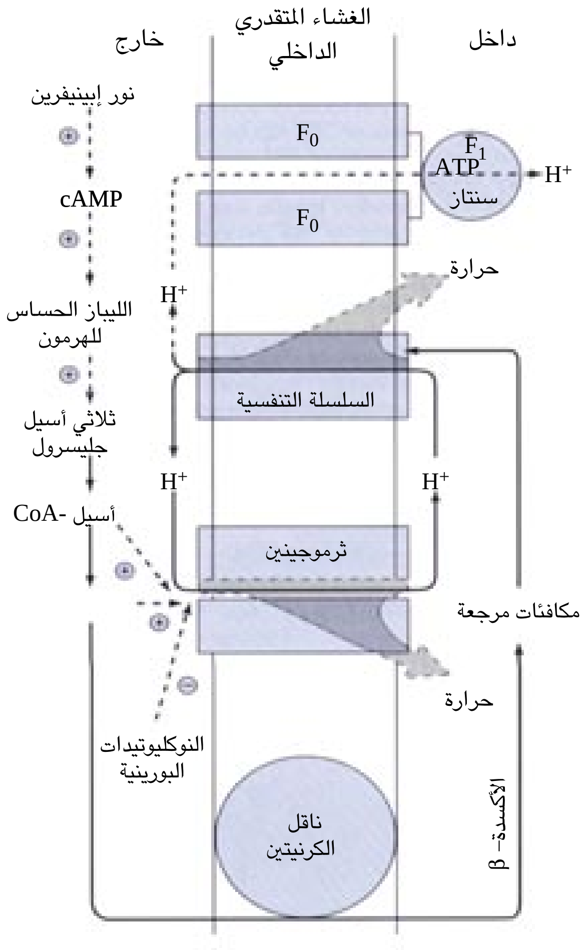
يشترك النسيج الشحمي الأسمر في الأيض بخاصة في الأوقات التي يكون

توليد الحرارة (Thermogenesis) فيها ضرورياً. لذلك يكون النسيج نشيطاً جداً في بعض الأنواع عند الاستيقاظ من البيات الشتوي، عند الحيوانات المعرضة للبرد (توليد الحرارة من دون قشعريرة)، وعند توليد الحرارة عند الحيوانات المولودة حديثاً. وعلى الرغم من أنه ليس نسيجاً بارزاً عند الإنسان، لكنه يوجد عند الأفراد الأسوياء، حيث يبدو أنه مسؤول عن توليد الحرارة المحرض بالغذاء، التي يمكن أن تفسر كيف يمكن لأفراد معينين أن «يأكلوا ولا يسمنوا».

والجدير بالملاحظة هنا، أن النسيج الشحمي الأسمر يكون ناقصاً أو غير موجود عند الأفراد البدناء. ويتميز النسيج الشحمي الأسمر بتروية دموية متطورة جيداً وبمحتوى عال من المتقدرات والسيتوكرومات لكن بفاعلية منخفضة من سنتاز الـATP. والأيض الذي يجري فيه هو أكسدة كل من الجلوكوز والأحماض الدهنية.

يعد النورإبينفرين، المتحرر من النهايات العصبية الودية، مهماً في زيادة تحلل الشحم في النسيج، وبزيادة تخليق ليباز البروتين الشحمي لتعزيز استعمال البروتينات الشحمية الغنية بثلاثي أسيل الجليسرول من الدم. والأمر المثير هنا عدم اقتران الأكسدة والفسفتة في متقدرات هذا النسيج، ولا يكون لثنائي نتروالفينول تأثير ولا توجد مراقبة تنفسية بوساطة الـ ADP.

أما الفسفتة التي تجري هنا فهي على مستوى الركيزة، أي عند مرحلة ثيوكيناز السكسينات وفي تحلل السكر. وبهذا الشكل، تنتج الأكسدة هنا حرارة كثيرة، لكن القليل فقط من الطاقة الحرة يقتنص في الـATP. وبناء على النظرية الكيميائية التناضحية (الفصل 14) يبدو واضحاً أن المدروج البروتوني، الذي يوجد في الحالة السوية عبر الغشاء المتقدري الداخلي بالمتقدرات المقترنة، يتشتت باستمرار في النسيج الشحمي الأسمر عن طريق بروتين الثرموجينين (Thermogenin) (مولد للحرارة) غير القارن المولد للحرارة، الذي يعمل كسبيل لإيصال البروتونات خلال الغشاء. ويمكن لهذا أن يفسر الغياب الواضح لتأثير مفككات الاقتران (الشكل 27-10).



الشكل 10-27 : توليد الحرارة في النسيج الشحمي الأسمر. تنتج فاعلية السلسلة التنفسية الحرارة إضافة لإزفاء البروتونات (الفصل 14). وتبدد هذه البروتونات حرارة أكثر عندما تعود إلى الحيز المتقدري الداخلي عن طريق الثرموجينين (مولد الحرارة) بدلاً من توليد الـ ATP عندما تعود عن طريق سنتاز F1 ATP. ويتثبط مرور الـ H^+ عن طريق الثرموجينين بالنوكليوتيدات البورينية عندما لا يُنبه النسيج الأسمر. ويلغى التثبيط بتأثير النور إيبيفرين بسبب إنتاج الأحماض الدهنية الحرة (FFA) وأسيل -CoA. ويلاحظ أن الدور المضاعف لأسيل -CoA هو في كل من تسهيل فعل الثرموجينين والتزويد بالمكافئات المرجعة للسلسلة التنفسية. تشير الرموز (+) و (–) إلى التأثيرات التنظيمية الموجبة والسالبة على الترتيب.

الخلاصة:

1– نظراً لأن الشحميات غير ذوابة في الماء، فيجب أن تتحد الشحميات اللاقطبية مع شحميات متقابلة الزمر وبروتينات لصنع بروتينات شحمية مزوجة (ممزوجة) بالماء للنقل بين الأنسجة في البلازما الدموية المائية.

2 – تم تمييز أربع مجموعات رئيسة من البروتينات الشحمية هي: الدقائق الكيلوسية التي تنقل الشحميات الناتجة عن الهضم والامتصاص. البروتينات الشحمية وضيعة الكثافة (VLDL) تنقل ثلاثي أسيل الجليسرول من الكبد. البروتينات الشحمية خفيضة الكثافة (LDL) الغنية بالكوليسترول والناتجة عن أيض VLDL والبروتينات الشحمية عالية الكثافة (HDL) الغني أيضاً بالكوليسترول لكنه يسهم في إزالة الكوليسترول من الأنسجة وفي أيض بروتينات شحمية أخرى.

3 – تستقلب الدقائق الكيلوسية و VLDL أولاً بالحلمهة بليباز البروتين الشحمي في الأنسجة غير الكبدية. ويزال معظم ثلاثي أسيل الجليسرول، وتظل بقية البروتين الشحمي في الدم. وتقبط هذه البقايا إلى الكبد بالالتقام المتواسط بالمستقبلات، لكن يقوم الكبد والأنسجة الأخرى في النهاية بقبط بعض من البقايا (IDL) الناتجة عن VLDL وعن LDL عن طريق مستقبل LDL.

4 – تشكل صمائم البروتينات الشحمية القسم البروتيني من البروتينات الشحمية. وهي تعمل كمنشطات للإنزيمات (مثل apo C-II و apo A-I) أو كلجائن للمستقبلات الخلوية (مثل apo A-I وapo E وapo B-100).

5 – يؤدي اللاتوازن في معدل تشكيل ثلاثي أسيل الجليسرول بالكبد وفي إفراز VLDL إلى الكبد الدهنية. ويحظى ذلك بأهمية سريرية في الكحولية حيث يتطور للتليف وقصور الوظيفة الكبدية.

6– يعد ثلاثي أسيل الجليسرول الشحم الادخاري الأساسي في النسيج الشحمي. وهو يتحرر بعد الحلمهة بالليباز الحساس للهرمون إلى أحماض دهنية حرة وجليسرول. وترتبط الأحماض الدهنية الحرة بالألبومين المصلي لنقلها إلى الأنسجة، حيث تستخدم كمصدر مهم للوقود. يتنبه الليباز الحساس للهرمون بالإبينفرين والنورإبينفرين ويتثبط بالإنسولين.

7 – يعد النسيج الشحمي الأسمر مقراً «لتوليد الحرارة من دون قشعريرة». وهو يوجد عند حيوانات البيات الشتوي وحديثة الولادة، كذلك يوجد بكمية صغيرة عند الإنسان، حيث قد يكون مسؤولاً عن توليد الحرارة المحرض بالغذاء. ينجم توليد الحرارة عن وجود بروتين الثرموجينين (مولد الحرارة)، الذي يعمل كسبيل لإيصال البروتونات خلال الغشاء المتقدري الداخلي، فاكاً بذلك اقتران الأكسدة بالفسفتة.

*** References:**

Borensztajn J (editor): Lipropratein Lipose. Elsevier Publishers, 1987.

Brewer HB et al: Apolipoproteins and lipoproteins in human plasma: An overview. *Clin Chem* 1988:34:B4.

Coppack SW et al: Effects of insulin on human adipose tissue metabolism in vivo. *Clin Sci* 1989:77:663.

Hussain MM et al: Chylomicron assembly and catabolism: role of apolipoproteins and receptors. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1300: 151.

Kaikans RM. Bass NM, Ockner RK: Functions of fatty acid binding proteins. *Experientia* 1990:46:617.

Lardy H, Shrago E: Biochemical aspects of obesity. *Annu Rev Biochem* 1990:59:689.

Lieber CS: Alcohol, liver, and nutrition. *J Am Coll Nutr 1991* 10:602.

Various authors: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and* Membranes. Vance DE. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 1996.

Various authors: Brown adipose tissue-role in nutridonal energetics. (Symposium.) *Proc Nutr Soc* 1989;48:165.

الفصل الثامن العشرون

تخليق الكوليسترول ونقله وإفراغه

Cholestrol Synthesis, Transport, and Excretion

مقدمة:

يوجد الكوليسترول في النسيج والبروتينات الشحمية بالبلازما إما على شكل كوليسترول حر، أو متحد مع حمض دهني طويل السلسلة، كإستر الكولستريل. ويتم تخليقه في العديد من الأنسجة بدءاً من أسيتيل CoA ويتم في النهاية التخلص منه من الجسم في الصفراء على شكل كوليسترول أو أملاح صفراوية. والكوليسترول هو الطليعة لكل الستيرويدات الأخرى في الجسم، مثل الستيرويدات القشرية والهرمونات الجنسية والأحماض الصفراوية والڤيتامين D. وهو على نحو نموذجي ينتج من الأيض عند الحيوانات، لذلك فهو يوجد في الأغذية ذات المنشأ الحيواني مثل صفار البيض واللحم والكبد والدماغ.

الأهمية الطبية البيولوجية:

الكوليسترول شحم متقابل الزمر وهو على هذا الشكل يعد مكوناً بنيوياً أساسياً في الأغشية والطبقة الخارجية من البروتينات الشحمية فى البلازما. وتنقل البروتينات الشحمية الكوليسترول الحر في الدم، حيث يتوازن بسهولة مع الكوليسترول في البروتينات الشحمية الأخرى وفي الأغشية. ويكون إستر

الكولستريل هو الشكل التخزيني للكوليسترول ويوجد في أغلب الأنسجة. وهو ينقل كحمولة في اللب الكاره للماء من البروتينات الشحمية. ويعد الـ LDL وسيطاً لقبط الكوليسترول الحر وإسترالكوليستريل إلى أنسجة عديدة. وتتم إزالة الكوليسترول الحر من الأنسجة عن طريق HDL حيث ينقل إلى الكبد لتحويله إلى أحماض صفراوية في عملية تعرف بنقل الكوليسترول المعكوس. ويعد الكوليسترول المكون الأساسي للحصيات الصفراوية (Gall stones). إلا أن دوره الأساسي في العمليات المرضية هو كعامل في تكون التصلب العصيدي بالشرايين الرئيسية، مسبباً أمراضاً وعائية دماغية وتاجية ووعائية محيطية. ويتعلَّق التصلبُ العصيدي التاجي بارتفاع نسبة كوليسترول LDL إلى HDL في البلازما.

يشتق الكوليسترول بشكل متساو تقريباً من الغذاء ومن التخليق الحيوي:

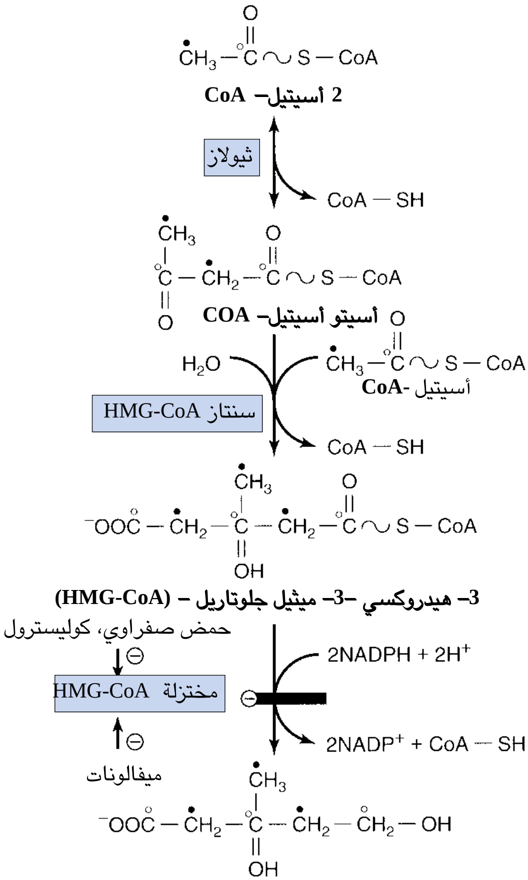
ينشأ أكثر بقليل من نصف كوليسترول الجسم عن طريق التخليق (حوالي 700 مج/100مل)، ويجري تأمين الباقي عن طريق الغذاء المتناسب. والكبد مسؤول عن 10٪ تقريباً من التخليق الكلي عند الإنسان، والأمعاء عن حوالي 10٪ أخرى.

تحوي كافة الأنسجة خلايا منواة فعلياً (فيها نواة) قادرة على تخليق الكوليسترول. حيث أن المسؤول الرئيسي عن تخليق الكوليسترول هو الجزء الجسيمي الصغري (الشبكة الهيولية الباطنية) والعصارة الخلوية في الخلية.

أسيتيل CoA هو مصدر كل ذرات الكربون في الكوليسترول:

يمكن تقسيم التخليق الحيوي للكوليسترول إلى خمس مراحل: (1) الميڤالونات، وهي مركب سداسي الكربون، يتم تخليقه من أسيتيل CoA (الشكل 28-1)؛ (2) وحدات الإيزوبرينويد التي تتشكل من الميڤالونات بخسارة CO_2 (الشكل 28-2)؛ (3) تتكاثف ست وحدات من الإيزوبرينويد لتشكيل المركب المتوسط، السكوالين؛ (4) يتحلق السكوالين ليشكل الستيرويد الأم (الأساسي)؛ اللانوستيرول؛ (5) يتشكل

الكوليسترول من اللانوستيرول بعد خطوات عديدة لاحقة، تتضمن خسارة ثلاث زمر ميثيلية (الشكل 28-3).



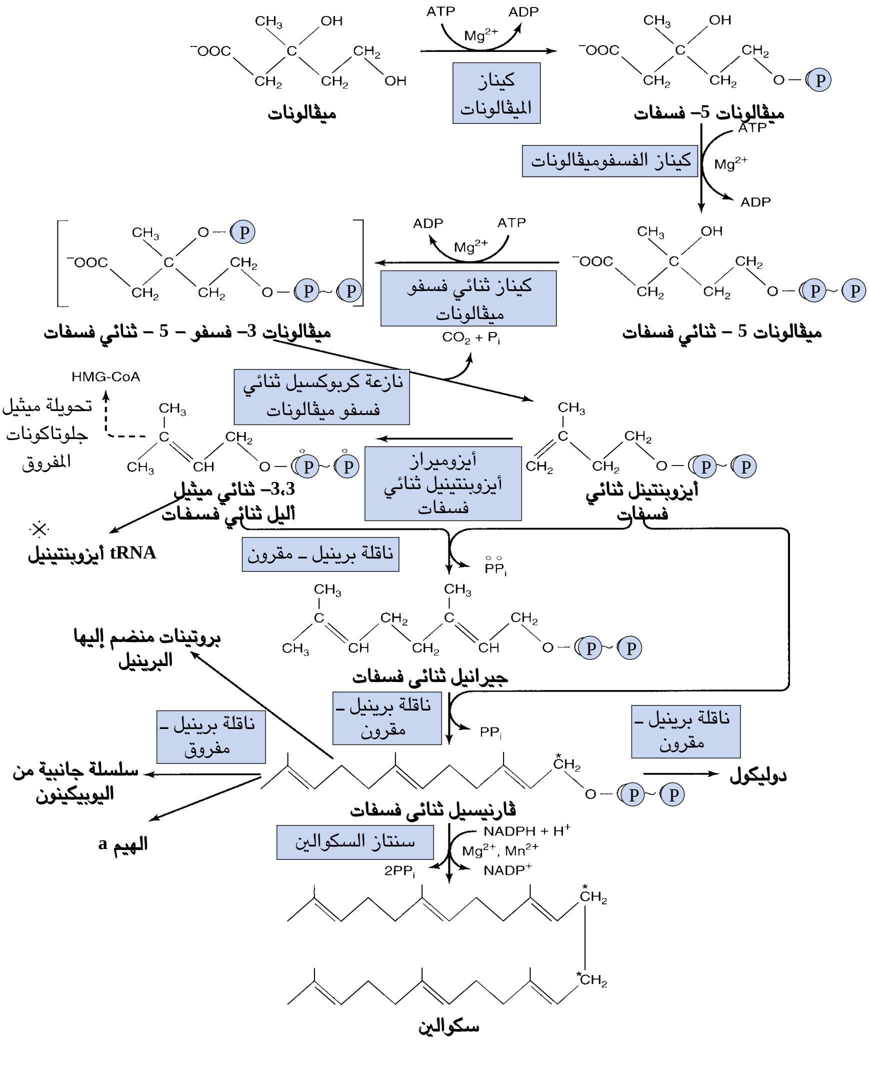
الشكل 28-1 : التخليق الحيوي للميڤالونات. يتثبط تخليق مختزلة HMG-CoA بالمسقلبات الفطرية: الميڤاستاتين (الكومبكتين) واللوڤاستاتين (الميڤينولين) والبروڤاستاتين والسيمڤاستاتين. وتشير الدوائر فاتحة وغامقة اللون إلى مصير كل ذرة كربون في قسم الأسيتيل من الأسيتيل -CoA.

الخطوة 1– يشكل الأسيتيل CoA الـHMG-CoA والميڤالونات: ويتابع السبيل عبر HMG-CoA (3 – هيدروكسي–3– ميثيل جلوتاريل – CoA) بتسلسل التفاعلات نفسها المشروحة في الفصل 24 لتخليق الأجسام الكيتونية في المتقدرات. لكن، بما أن تخليق الكوليسترول يقع خارج المتقدرات؛ فإن السبيلين مستقلان عن بعضهما. حيث أنه في البداية يتكاثف جزيئان من أسيتيل -CoA لتشكيل أسيتوأسيتيل -CoA بتحفيز إنزيم الثيولاز (Thiolase) في العصارة الخلوية. وبالمقابل، ففي الكبد، تنتشر الأسيتوأسيتات المتشكلة داخل المتقدرات في سبيل تكون الكيتون (الفصل 24) إلى العصارة الخلوية، ويمكن أن تنشط إلى أسيتو أسيتيل -CoA بتأثير سنتاز أسيتوأسيتيل -CoA، الذي يتطلب للـ ATP و CoA. ويتكاثف أسيتوأسيتيل -CoA مع جزيء آخر من أسيتيل CoA بتحفيز سنتاز HMG-CoA لتشكيل HMG-CoA.

يتحول HMG-CoA إلى الميڤالونات بإرجاع ثنائي المرحلة بوساطة NADPH المحفز بردكتاز CoA، وهو إنزيم الجسيمات الصغرية الذي يعتقد أنه يحفز خطوة تحديد المعدل في سبيل تخليق الكوليسترول، وهو مقر فعل الصف الأكثر فاعلية من الأدوية الخافضة للكوليسترول، أي مثبطات مختزلة HMG-CoA (الستاتينات Statins) (الشكل 28-1).

الخطوة 2 – تشكل الميڤالونات وحدات الإيزوبرينويد الفعالة: تفسفت الميفالونات بالـ ATP لتشكيل عدة متوسطات مفسفتة فعالة (الشكل 28-2)؛ ويتشكل عن طريق نزع الكربوكسيل، وحدة الإيزوبرينويد الفعالة، أي إيزوبنتينيل ثنائي الفسفات.

الخطوة 3 – تشكل ست وحدات من الإيزوبرينويد السكوالين: تتضمن هذه المرحلة تكاثف ثلاثة جزيئات من الأيزوبنتينيل ثنائي الفسفات لتشكيل ثنائي فسفات الڤارنيسيل. ويحدث هذا عن طريق مصاوغة الأيزوبنتينيل ثنائي الفسفات، المتضمن إزاحة رابطة مضاعفة لتشكيل ثنائي ميثيل أليل ثنائي الفسفات، ويلي ذلك التكاثف مع جزيء آخر من الأيزوبنتينيل ثنائي الفسفات لتشكيل المتوسط ثنائي فسفات الجيرانيل المؤلف من عشر ذرات كربون. (الشكل 28-2).



الشكل 2-28 : التخليق الحيوي للسكوالين واليوبيكينون والدوليكول ومشتقات أخرى عديدة الأيزوبرين. (HMG 3: هيدروكسي –3– ميثيل جلوتاريل؛ *: السيتوكينين.) توجد ثمالة الڤارنيسيل في الهيم a من أكسيداز السيتوكروم. ويصبح الكربون المؤشر بنجمة C_{11}أو C_{12} في السكوالين. إن سنتاز السكوالين إنزيم يوجد في الجسيمات الصغرية؛ في حين أن كافة الإنزيمات الأخرى المشار إليها تكون بروتينات ذوابة في العصارة الخلوية، وبعضها يوجد في الجسيمات البيروكسية.

ويحدث تكاثف آخر مع أيزوبنتينيل ثنائي الفسفات فيتشكل ثنائي فسفات الفارنيسيل. ويتكاثف جزيئان من ثنائي فسفات الفارنيسيل عند النهاية ثنائية الفسفات بتفاعل يتضمن أولاً حذف البيروفسفات اللاعضوية لتشكيل طليعة السكوالين ثنائي الفسفات، ثم الإرجاع بالـ NADPH، مع حذف جذر البيروفسفات اللاعضوية الباقي. ويكون المركب الناتج هو السكوالين (Squalene). وقد يوجد سبيل بديل يعرف بـ «تحويلة الميثيل جلوتاكونات المفروق Trans-methylglutaconate Shunt». حيث يزيل هذا السبيل نسبة كبيرة (5٪ في الأكباد المغذاة، وترتفع إلى 33٪ في الأكباد عند الصيام) من ثنائي ميثيل أليل ثنائي الفسفات، ويعيده عن طريق 3 – ميثيل جلوتاكونات المفروق -CoA إلى HMG-CoA. وقد يكون لهذا السبيل قوة منظمة فيما يتعلق بالمعدل الكلي لتخليق الكوليسترول.

الخطوة 4 – يتحول السكوالين إلى اللانوستيرول: للسكوالين بنية تشابه إلى حد بعيد نواة الستيرويد (الشكل 28-3) ويتم تحول السكوالين، قبل أن تنغلق الحلقة، إلى السكوالين 2، 3 فوق الأكسيد بفعل أكسيداز ذات وظيفة مختلطة في الشبكة الهيولية الباطنية، هي إيبوكسيداز السكوالين (فوق أكسيداز السكوالين Squalene Epoxidase). وتنقل الزمرة الميثيلية من C_{14} إلى C_{13} ، وتلك التي في C_8 إلى C_{14}، من خلال عملية إغلاق الحلقة، وذلك بتحفيز سيكلاز أكسيد السكوالين: لانو ستيرول.

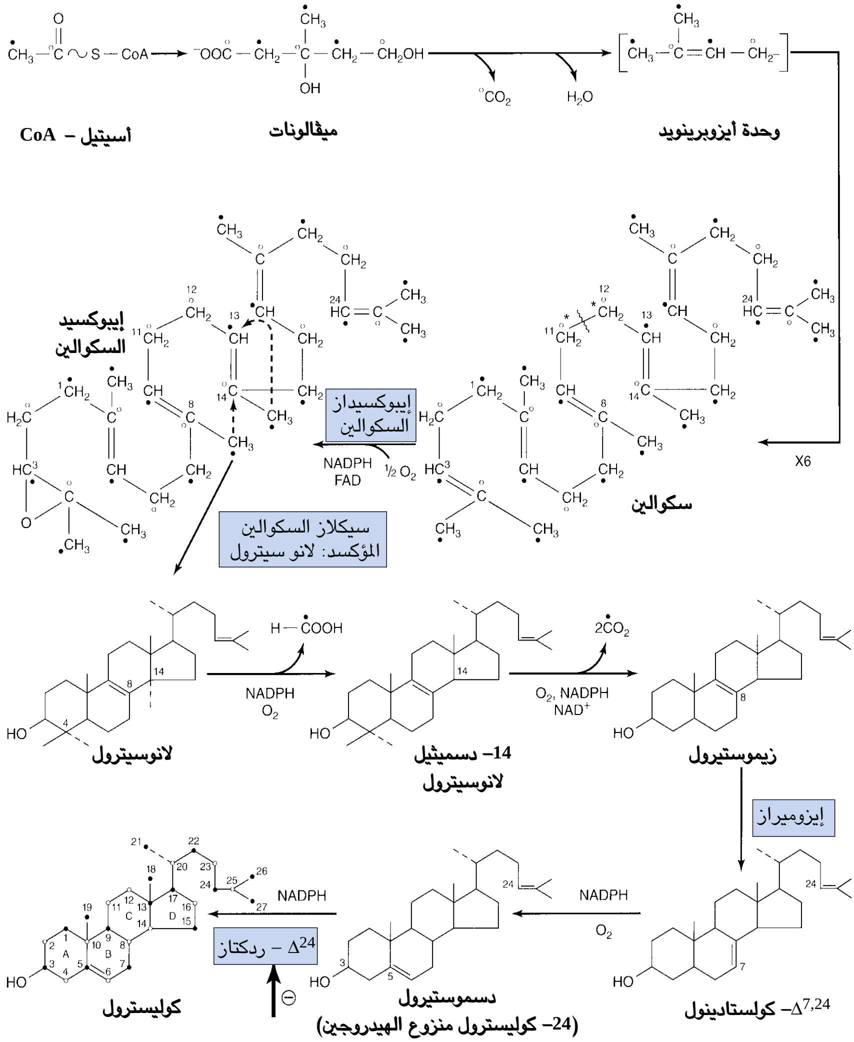
الخطوة 5 – يتحول اللانوستيرول إلى الكوليسترول: يجري في هذه المرحلة الأخيرة (الشكل 28-3)، تشكيل الكوليسترول من اللانوستيرول في أغشية الشبكة الهيولية الباطنية، ويتضمن ذلك حدوث تبدلات في النواة الستيرويدية والسلسلة الجانبية. وتتأكسد الزمرة الميثيلية على C_{14} إلى CO_2، لتشكيل 14– ديسميثيل لانوستيرول (اللانوستيرول منزوع الميثيل) ويجري على غرار ذلك حذف زمرتين ميثيليتين أخريين على C_4 لينتج الزيموستيرول. ويتشكل $\Delta^{7,24}$ كوليستادينول من الزيموستيرول عن طريق تحريك الرابطة المضاعفة بين C_8 و C_9 إلى الموضع بين C_8 و C_7 ويتشكل في هذه المرحلة الديسموستيرول (Desmosterol) بفعل انزياح آخر في الرابطة المضاعفة في الحلقة B، لتأخذ الوضعية بين C_5، C_6، كما هو في

الكوليسترول. ويجري أخيراً إنتاج الكوليسترول عندما ترجع الرابطة المضاعفة في السلسلة الجانبية، مع أن ذلك يمكن أن يحدث في أية مرحلة من كامل مراحل التحول إلى الكوليسترول. الجدير ذكره هنا أن الترتيب الدقيق الذي تجري وفقاً له الخطوات الموصوفة فعلياً غير معروف بشكل أكيد.

من المرجح أن ترتبط المتوسطات الموجودة من السكوالين إلى الكوليسترول ببروتين خاص حامل للشحميات يعرف باسم البروتين الحامل للسكوالين والستيرول. ويربط هذا البروتين الستيرولات والشحميات الأخرى غير الذوابة، مما يسمح لها بالتفاعل في الطور المائي بالخلية. إضافة إلى ذلك، فإنه يبدو من المرجح أنه يجري تحويل الكوليسترول إلى الهرمونات الستيرويدية والأحماض الصفراوية وهو على شكل بروتين حامل للستيرول والكوليسترول، ويشارك في تشكيل الأغشية والبروتينات الشحمية.

تتشكل مركبات إيزوبرينويدية مهمة أخرى من الفارنيسيل ثنائي الفسفات:

إن الفارنيسيل ثنائي الفسفات هو نقطة التفرع لتخليق عديدات الإيزوبرينويد الأخرى، الدوليكول (Dolichol) واليوبيكينون (Ubiquinone). ويتشكل كحول متعدد الأيزوبرينيل، هو الدوليكول (الشكل 16-26 والفصل 56)، بإضافة ثمالات أخرى من الأيزوبنتينيل ثنائي الفسفات، تصل حتى 16، في حين تتشكل السلسلة الجانبية لليوبيكينون (الشكل 14-5) بإضافة من ثلاث إلى سبع وحدات إيزوبرينويد أخرى. وقد تخضع بعض البروتينات الرابطة للـ GTP في غشاء الخلية لعملية إضافة عديد البرينيل (Polyprenylation) عن طريق الاتحاد مع ثمالات مشتقة من الفارنيسيل. ويمكن لهذه العملية أن تسهل تثبيت (إرساء) البروتينات المضاف لها البرينيل بالأغشية الشحمانية. وبالإضافة لثمالات الفارنيسيل (15 كربوناً)، تسهم سلاسل جيرانيل الجيرانيل (20 كربوناً) أيضاً في ضم البرينيل للبروتينات.



الشكل 3-28 : التخليق الحيوي للكولسترول. إن المواقع المرقمة هي تلك العائدة للنواة الستيرويدية وتشير الدوائر غامقة وفاتحة اللون إلى مصير كل ذرة كربون في قسم الأسيتيل من الأسيتيل -CoA. أما النجوم فهي تدل على وسم السكوالين في الشكل 2-28.

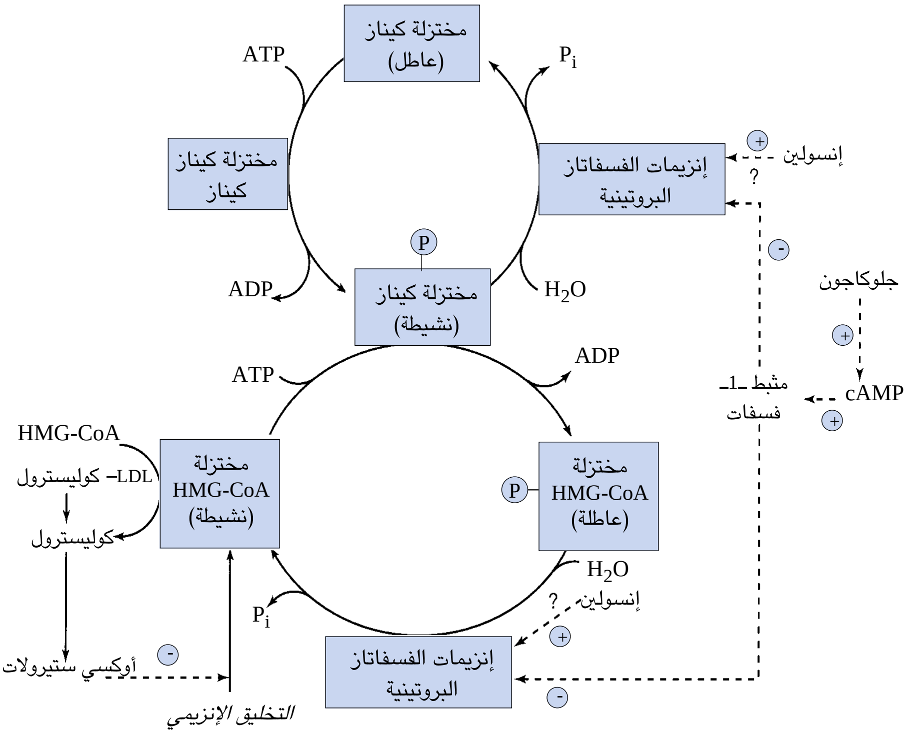
يراقب تخليق الكوليسترول بتنظيم مختزلة HMG-CoA:

يجري تنظيم تخليق الكوليسترول قرب بداية السبيل عند خطوة مختزلة HMG-CoA. ويكون هناك تناقص ملحوظ في فاعلية مختزلة HMG-CoA عند الحيوانات الصائمة، وهذا يفسر التخليق المتناقص للكوليسترول خلال الصيام. وتوجد آلية تلقيم راجع يتم بوساطتها تثبيط مختزلة HMG-CoA في الكبد بتأثير الميڤالونات، وهو الناتج المتوسط، وبالكوليسترول وهو الناتج الرئيسي في السبيل. وبما أنه لا يمكن إثبات التثبيط المباشر للإنزيم بتأثير الكوليسترول، لكن يمكن للكوليسترول (أو متأيض ما، مثل الستيرول المؤكسج) أن يعمل على كظم انتساخ جين مختزلة HMG-CoA. ويتثبط تخليق الكوليسترول أيضاً بكوليسترول -LDL المقبوط عن طريق مستقبلات LDL. ويحدث تباين يومي في كل من تخليق الكوليسترول وفعالية المختزلة. إلا أنه توجد تأثيرات أكثر سرعة في فعالية المختزلة بشكل يتعدى إمكانية تفسيرها بتغيرات معدل تخليق البروتين فحسب. ويزيد إعطاء الإنسولين أو الهرمون الدرقي من فاعلية مختزلة HMG-CoA في حين أن الجلوكاجون أو القشرانيات السكرية تخفضها. ويوجد الإنزيم في كل من الشكلين الفعال وغير الفعال، الذي يمكن أن يعدل بشكل عكسي بآليات الفسفتة ونزع الفسفات، وقد يكون بعضها معتمداً على cAMP، ولذلك فهو يستجيب مباشرة للجلوكاجون (الشكل 28-4).

لقد درس تأثير الاختلافات في كمية الكوليسترول في الغذاء على الإنتاج داخلي المنشأ للكوليسترول عند الجرذان. فعندما كان يوجد 0.05 ٪ فقط من الكوليسترول في الغذاء، فإن 70-80٪ من الكوليسترول في الكبد والأمعاء الدقيقة والغدة الكظرية يجرى تخليقه في الجسم، في حين عندما يرتفع المدخول الغذائي إلى 2٪، انخفض الإنتاج داخلي المنشأ.

ويبدو أن التخليق الكبدي هو الذي يتثبط فقط بالكوليسترول الغذائي. وقد أوضحت التجارب على الكبد المروى بأن بقايا الدقائق الكيلوسية الغنية بالكوليسترول، التي يقبطها الكبد (الفصل 27)، تثبِّط تخليق الستيرول.

وقد أعطت محاولات خفض الكوليسترول البلازمي عند الإنسان، عن طريق إنقاص كمية الكوليسترول في الغذاء، نتائج متفاوتة. لكن يمكن القول عموماً إن نقصاً مقداره 100 مج من الكوليسترول فى الغذاء يسبب نقصاً بتركيزه في المصل يبلغ 0.13 ممول/ل تقريباً.



الشكل 4-28 : الآليات المحتملة في تنظيم تخليق الكوليسترول بوساطة مختزلة HMG-CoA. يكون للإنسولين دور غالب بالمقارنة مع الجلوكاجون. انظر الشكل 6-20 لتوضيح ما يعنيه موقع النجمة.

تؤثر عوامل عديدة في توازن الكوليسترول في الأنسجة:

تعد العمليات التالية، على المستوى النسيجي، هي المتحكمة بتوازن الكوليسترول في الخلايا (الشكل 28-5).

وتنجم الزيادة عن: (1) قبط البروتينات الشحمية محتوية الكوليسترول من قبل المستقبلات، مثل مستقبل LDL أو المستقبل اللاقط؛ (2) قبط الكوليسترول الحر من البروتينات الشحمية الغنية بالكوليسترول إلى الغشاء الخلوي، (3) تخليق الكوليسترول؛ و (4) حلمهة إسترات الكولسترول بإنزيم هيدرولاز إستر الكولستريل.

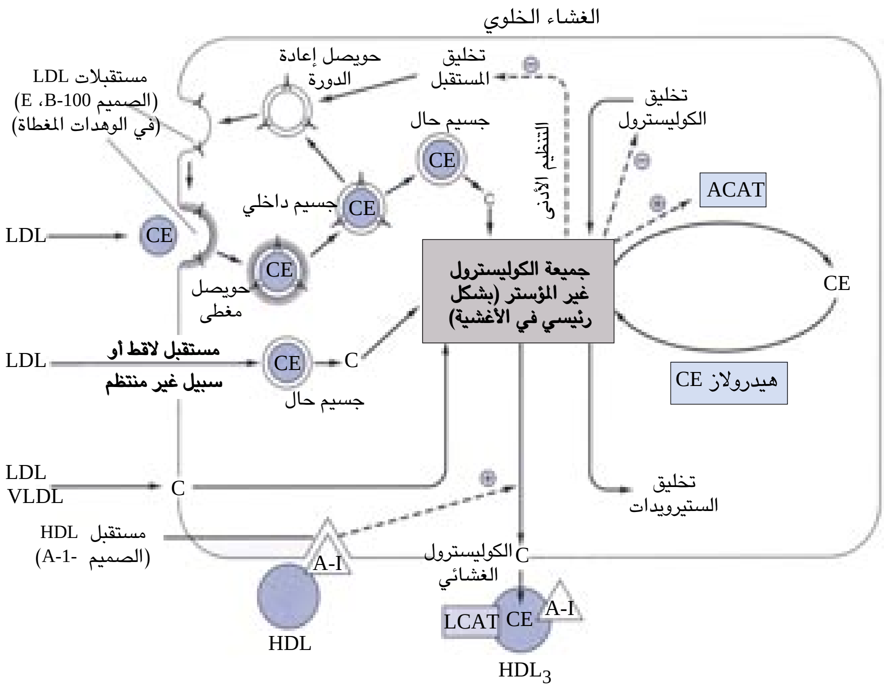
أما النقص فيعود إلى: (1) تدفق الكوليسترول من الغشاء إلى البروتينات الشحمية ذات الكوليسترول المنخفض بخاصة HDL_3، أو لـ HDL القرصي، أو لقبل β-HDL، بتحريض LCAT (ناقلة أسيل ليستين كوليسترول)؛ (2) أسترة الكوليسترول بـ ACAT (ناقلة أسيل -CoA: كوليسترول)؛ و (3) استخدام الكوليسترول لتخليق الستيرويدات الأخرى، مثل الهرمونات، أو الأحماض الصفراوية في الكبد.

ينظم مستقبل LDL بدقة عالية:

توجد مستقبلات LDL (E, apo B-100) على سطح الخلية في وهدات مغطاة على جانب لعصارة الخلوية من غشاء الخلية، ببروتين يدعى الكلاثرين (Clathrin). والمستقبل هو بروتين سكري يمتد على الغشاء، وتكون منطقة الارتباط B-100 عند النهاية الطرفية الأمينية المكشوفة. وبعد الارتباط مع المستقبل، ويقبط LDL سليماً بالالتقام. ويتحطم في الجسيمات الحالة ويتضمن ذلك حلمهة الصميم البروتيني وإستر الكولستريل، ثم إزفاء الكوليسترول إلى الخلية. ولا تتخرب المستقبلات، لكنها تعود إلى سطح الخلية. ويثبِّط تدفق الكوليسترول هذا بأسلوب متناسق سنتاز HMG-CoA ومختزلة HMG-CoA وبالتالي تخليق الكوليسترول، وينبه فاعلية ACAT، وينظم إلى الحد الأدنى تخليق مستقبل الـ LDL. وبهذا الشكل يجري تنظيم عدد مستقبلات LDL على سطح الخلية وفقاً للحاجة من الكوليسترول من

أجل تركيب الأغشية أو الهرمونات الستيرويدية أو تخليق الأحماض الصفراوية (الشكل 28-5).

إن مستقبل E وapo B-100 هو مستقبل LDL «ذي ألفة عالية»، ويمكن أن يُشبع في معظم الظروف. ويبدو أنه توجد مستقبلات LDL أخرى «ذات ألفة منخفضة» بالإضافة إلى سبيل الالتقاط غير المنظَّم.



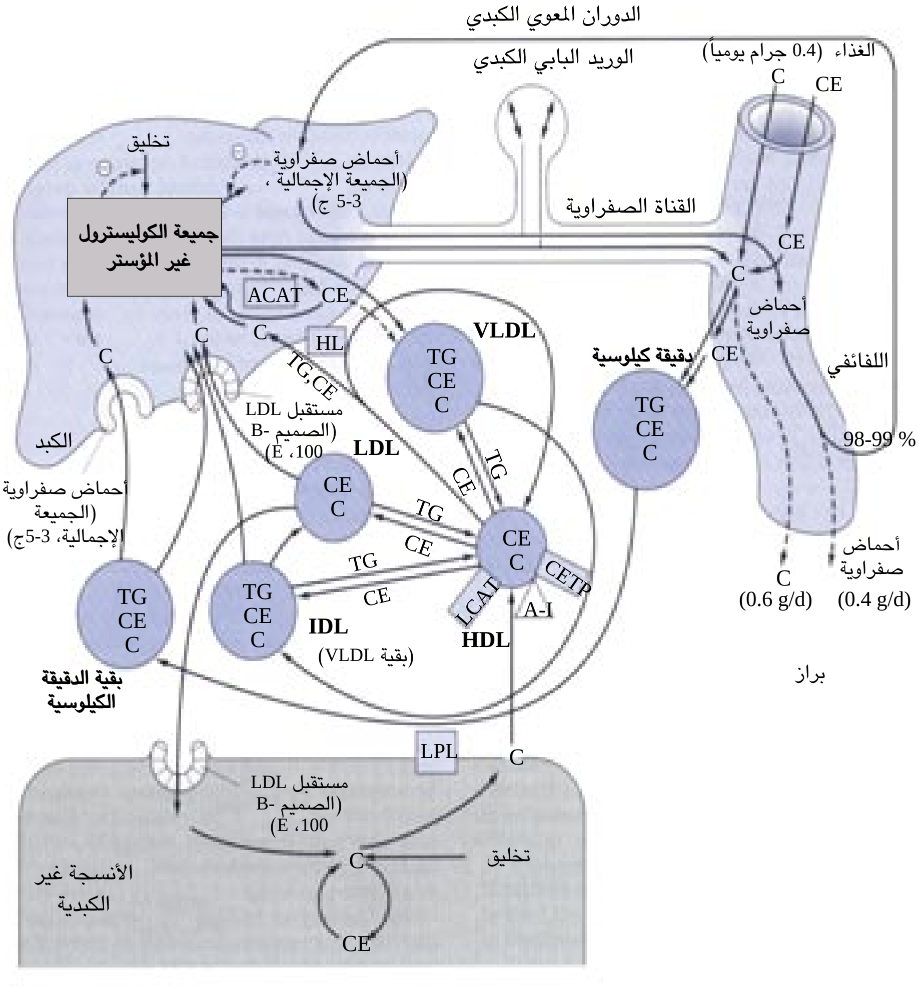
الشكل 28-5 : العوامل المؤثرة في توازن الكوليسترول على المستوى الخلوي. قد يبدأ النقل العكسي للكوليسترول بارتباط HDL إلى مستقبل HDL الصميم (A-l)، الذي، عن طريق الكيناز البروتيني C (الفصل 44)، ينبه إزفاء الكوليسترول إلى الغشاء البلازمي. (C: كوليسترول؛ CE : إستر الكوليسترول، ACAT: ناقلة أسيل أسيل CoA: كوليسترول؛ LCAT: ناقلة أسيل ليسيتين: كوليسترول؛ A-l: صميم البروتين الشحمي A-l؛ LDL: البروتين الشحمي خفيض الكثافة؛ VLDL: البروتين الشحمي وضيع الكثافة) ولم يبين توازن LDL و HDL.

ينقل الكوليسترول بين الأنسجة في البروتينات الشحمية البلازمية (الشكل 28-6):

يبلغ إجمالي الكوليسترول في البلازما عند الأفراد المعتاشين على الغذاء الغربي، حوالي 5.2 ممول/ل، ويزداد ذلك مع العمر، على الرغم من وجود اختلافات واسعة بين الأفراد. ويوجد الجزء الأكبر منه في الشكل المؤستر. ويجري نقله في البروتينات الشحمية في البلازما، وتوجد النسبة الأعلى من الكوليسترول في الـ LDL. لكن في الظروف التي يكون فيها VLDL هو السائد كمياً، فإن النسبة الزائدة من كوليسترول البلازما ستكون متوضعة في هذا الجزء.

يحتاج الكوليسترول فى الغذاء إلى عدة أيام ليتوازن مع الكوليسترول في البلازما، ولعدة أسابيع ليتوازن مع كوليسترول الأنسجة. ويكون تقلب (تحول) الكوليسترول في الكبد سريعاً نسبياً، بالمقارنة مع العمر النصفي لكوليسترول الجسم الكلي. ويتوازن الكوليسترول غير المؤستر في البلازما والكبد في غضون ساعات، لأنه يجري تبادل الكوليسترول ونقله بسرعة بين الأغشية الخلوية والبروتينات الشحمية البلازمية وأغشية الكريات الحمراء.

يتحلمه إستر الكوليستريل في الغذاء إلى الكوليسترول الذي يختلط مع الكوليسترول الغذائي غير المؤستر والكوليسترول الصفراوي قبل امتصاصه من الأمعاء، بالترافق مع شحميات أخرى. وهو يمتزج مع الكوليسترول الذي تم تخليقه في الأمعاء، وينجبل بالدقائق الكيلوسية. ويؤستر 80-90٪ من الكوليسترول الممتص بأحماض دهنية طويلة السلسلة في مخاطية الأمعاء. أما الستيرولات النباتية (السيتوستيرولات) فهي تمتص بضعف. وعندما تتفاعل الدقائق الكيلوسية مع ليباز البروتين الشحمي لتشكيل بقايا الدقائق الكيلوسية، يضيع نحو 5٪ فقط من إستر الكولستريل. ويُقبط الباقي من قبل الكبد عندما تتفاعل البقايا مع البقايا أو مستقبل LDL ويحلمه إلى كوليسترول حر. وينقل الـ VLDL المتشكل في الكبد الكوليسترول إلى البلازما. ويحتجز معظم الكوليسترول في VLDL في بقايا الـ VLDL (IDL) التي يقبطها الكبد، أو تتحول إلى LDL، الذي يؤخذ بدوره من قبل مستقبلة LDL في الكبد والأنسجة غير الكبدية.



الشكل 6-28 : نقل الكوليسترول بين الأنسجة عند الإنسان. (C: كوليسترول غير مؤستر؛ CE: إستر الكوليسترول؛ T.G: ثلاثي أسيل جليسرول؛ VLDL:البروتين الشحمي وضيع الكثافة؛ IDL: البروتين الشحمي متوسط الكثافة؛ LDL: بروتين شحمي خفيض الكثافة؛ HDL: بروتين شحمي رفيع الكثافة؛ ACAT: ناقلة أسيل أسيل -CoA: كوليسترول؛ LCAT: ناقلة أسيل ليسيثين: كوليسترول؛ A-l: صميم البروتين الشحمي A-l؛ CETP: البروتين الناقل لإستر الكولستريل؛ LPL: ليباز البروتين الشحمي؛ HL: الليباز الكبدي).

إن LCAT هو المسؤول عن تشكيل معظم إستر الكولستريل في البلازما:

إن فاعلية LCAT في البلازما هي المسؤولة عن كامل إستر الكولستريل في البلازما عند الإنسان (ليس هذا هو الحال عند الأنواع الأخرى، مثل الجرذان، حيث توجد فاعلية كبيرة للـ ACAT في الكبد، مما يسمح بتصدير كبير لإستر الكولستريل في VLDL الوليد). وتتعلق فاعلية LCAT بالـ HDL المحتوى apo A-1. وعندما يصبح الكوليسترول في HDL مؤستراً، فإنه يكون مدروجاً تركيزياً ويسحب الكوليسترول من الأنسجة ومن البروتينات الشحمية الأخرى (الشكلان 28-5 و 28-6). ويصبح أقل كثافة، فيشكل HDL_2، الذي ينقل الكوليسترول إلى الكبد. وبذلك يقوم الـ HDL بدور مهم في نقل الكوليسترول المعكوس، وهي العملية التي يجري من خلالها نقل كوليسترول الأنسجة إلى الكبد.

يسهل البروتين الناقل لإستر الكولستريل نقل إستر الكولستريل من HDL إلى البروتينات الشحمية الأخرى:

يوجد هذا البروتين في بلازما الإنسان، ولا يوجد في الجرذان، ويترافق أيضاً مع الـ HDL. وهو يسهل نقل إستر الكولستريل من HDL إلى VLDL و IDL وLDL، ويسمح بنقل ثلاثي أسيل الجليسرول في الاتجاه المعاكس. وبذلك فهو يحرر تثبيط الناتج لفاعلية LCAT في HDL وهكذا فإن الكثير من إستر الكولستريل المتشكل عند الإنسان، بفعل LCAT في HDL، يجد طريقه إلى الكبد عن طريق بقايا VLDL (IDL) أو LDL (الشكل 28-6). وبآن واحد فإن HDL_2 الذي أغني بثلاثي أسيل الجليسرول يفرغ هذه الحمولة في الكبد بعد التفاعل مع الليباز الكبدي، ويعود إلى الدورة على شكل HDL_3. كما تم أيضاً تحديد بروتين ناقل للشحميات الفسفورية.

يجب أن يدخل الكوليسترول في النهاية إلى الكبد ويفرغ في الصفراء على شكل كوليسترول أو أحماض صفراوية (أملاح):

يتم التخلص من نحو 1جم كوليسترول من الجسم في اليوم. حيث يفرغ النصف تقريباً في البراز بعد تحوله إلى أحماض صفراوية. ويفرع الباقي على شكل كوليسترول. ويعاد امتصاص الكثير من الكوليسترول المفرز في الصفراء، ويعتقد بأن بعض الكوليسترول على الأقل الذي يعمل كطليعة للستيرولات البرازية يكون مشتقاً من المخاطية المعوية. ويتشكل الكوبروستانول (Coprostanol)، وهو الستيرول الأساسي في البراز، من الكوليسترول بفعل الجراثيم في الأمعاء الأدنى. ويعاد امتصاص نسبة كبيرة من الإفراز الصفراوي من الأملاح الصفراوية إلى الدم البابي، ويقبط من قبل الكبد ويعاد إفراغها في الصفراء. ويعرف هذا بالدم المعوي الكبدي. أما الأملاح الصفراوية التي لا يعاد امتصاصها أو مشتقاتها، فتفرغ في البراز.

تتشكل الأحماض الصفراوية من الكوليسترول:

يجري تخليق الأحماض الصفراوية الأولية في الكبد من الكوليسترول. وهي حمض الكوليك (Cholic Acid) (الموجود بأكبر كمية) وحمض كينو ديوكسي كوليك (Chenodeoxycholic)، ويتشكل كلاهما من طليعة مشتركة، تُشتق هي نفسها من الكوليسترول (الشكل 28-2).

إن هدرلة الكوليسترول في الموضع α7 هي خطوة التحويل الأولى في التخليق الحيوي للأحماض الصفراوية، وذا التفاعل هو المحدد للمعدل في سبيل تخليق هذه الأحماض. ويحفز التفاعل بـ هيدروكسيلاز α7، وهو إنزيم في الجسيمات الصغرية، يحتاج الأكسجين و NADPH والسيتوكروم P450، ويبدو أنه من إنزيمات الأكسيجيناز الأحادية النموذجية. وتحفز خطوات الهدرلة التالية كذلك بإنزيمات الأكسيجيناز الأحادية. ويتداخل عوز الفيتامين C مع تشكيل الأحماض الصفراوية عند خطوة الهدرلة α7 ويؤدي إلى تراكم الكوليسترول والتصلُّب العصيدي عند الخنازير الغينية (المصابة بالبثع Scorbutic).

يقسم سبيل التخليق الحيوي للأحماض الصفراوية بدئياً إلى سبيل فرعي واحد يؤدي إلى كوليل -CoA، الذي يتميز بوجود مجموعة α-OH إضافية على الموضع 12. وسبيل آخر يقود إلى كينو ديوكسي كوليل -CoA. وفيما عدا هذا الاختلاف يتضمن كلا السبيلين تفاعلات هدرلة متماثلة وتقصير السلسلة الجانبية (الشكل 28-7)، لإعطاء البنى النموذجية للأحماض الصفراوية ذات المجموعات α-OH على الموضعين 3 و 7 وإشباع كامل بالنواة الستيرويدية. وتدخل هذه الأحماض الصفراوية الأولية الصفراء على شكل مقترنات مع الجليسين أو التاورين. حيث يحدث الاقتران في الجسيمات البيروكسية وتكون نسبة المقترنات بالجليسين إلى تلك بالتورين مساوية 3 : 1 عند الإنسان بالحالة السوية. ونظراً لأن الصفراء تحوي كميات كبيرة من الصوديوم والبوتاسيوم، والباهاء pH فيها قلوية فإنه يفترض أن الأحماض الصفراوية ومقترناتها تكون فعلياً على شكل ملح ومن هنا جاء مصطلح «الأملاح الصفراوية». ويتعرض قسم من الأحماض الصفراوية الأولية في الأمعاء إلى تغيرات أخرى بتأثير الجراثيم المعوية. وتتضمن هذه التغيرات نزع الاقتران ونزع الهيدروكسيل α7، وهي تؤدي إلى إنتاج أحماض صفراوية ثانوية، حمض ديوكسي كوليك من حمض الكوليك، وحمض الليثوكوليك من حمض كينوديوكسي كوليك (الشكل 28-7).

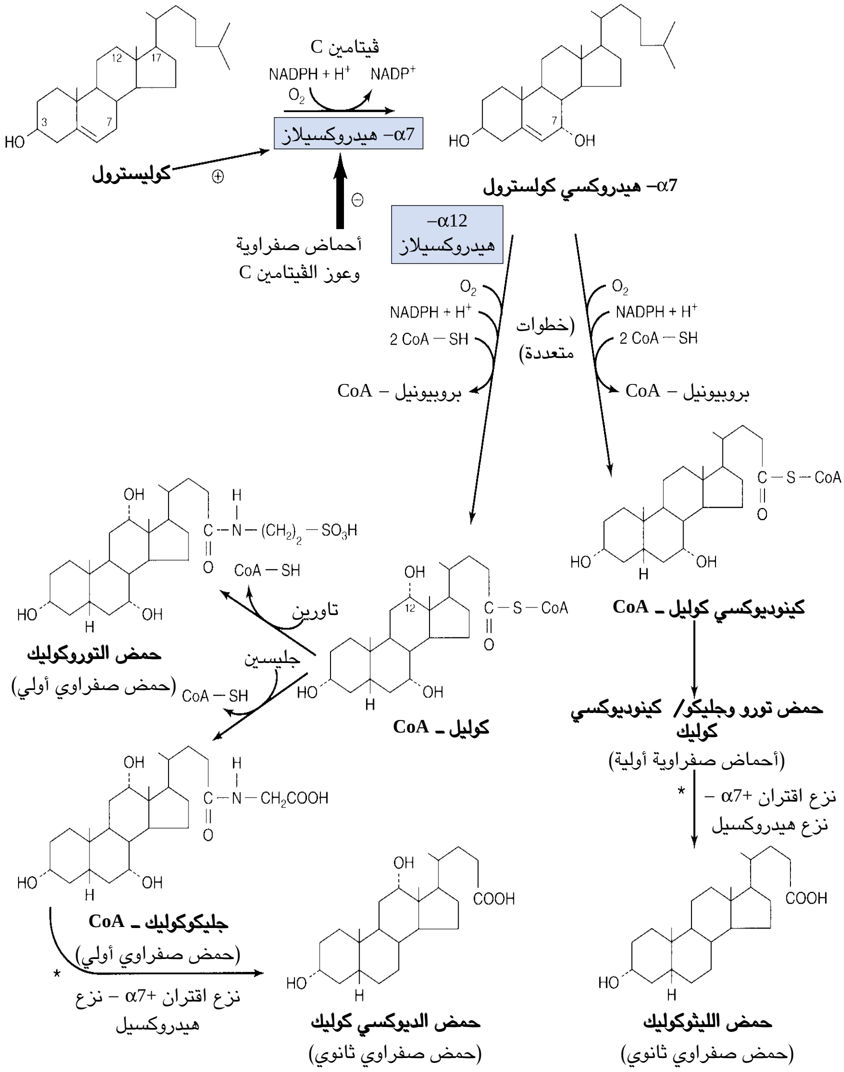
تعود معظم الأحماض الصفراوية إلى الكبد في الدم المعوي الكبدي:

على الرغم من أنه يجري امتصاص نواتج هضم الدهون، بما فيها الكوليسترول، في الـ 100 سم الأولى من الأمعاء الدقيقة، إلا أن الأحماض الصفراوية الأولية والثانوية تمتص في اللفائفي حصراً، معيدة إلى الكبد عن طريق الدم البابي حوالي 98-99 ٪ من الأحماض الصفراوية المفرزة للأمعاء. ويعرف هذا بالدم المعوي الكبدي. لكن وبسبب عدم ذوبان حمض الليثوكوليك فإنه لا يعاد امتصاصه ولا بأي درجة معتبرة. ويفلت جزء صغير من الأملاح الصفراوية ـ ربما أقل من 400 مجم/دل فقط ـ من الامتصاص، لذلك فهو يطرح في البراز. حتى ولو كانت هذه الكمية صغيرة جداً، إلا أنها تمثل السبيل الرئيسي للتخلص من الكوليسترول.

ويكون الدم المعوي الكبدي للأملاح الصفراوية فعالاً إلى درجة أنه يمكن لجميعة صغيرة نسبياً من الأحماض الصفراوية (حوالي 3-5 جم) أن تدوركل يوم عبر الأمعاء من 6 إلى 10 مرات، مع ضياع كمية قليلة فقط منها في البراز، أي 1-2٪ تقريباً من كل مرور عبر الدم المعوي الكبدي. إلا أنه يجري في كل يوم تخليق كمية من الأحماض الصفراوية تكافئ تلك المطروحة في البراز بدءاً من الكوليسترول في الكبد، بحيث تتم المحافظة على جميعة الأحماض الصفراوية بحجم ثابت. ويتحقق ذلك عن طريق جملة من المراقبات والتحكمات بالارتجاع.

ينظم تخليق الأحماض الصفراوية عند خطوة الهدروكسيلاز – α7:

إن الخطوة الأساسية المحددة لمعدل التخليق الحيوي للأحماض الصفراوية هي عند تفاعل الهدروكسيلاز α7–، وفي التخليق الحيوي للكوليسترول تكون عند خطوة ردكتاز لـ HMG-CoA (الشكل 28-1). وغالباً ما تتغير فاعليات هذين الإنزيمين على التوازي، وبالنتيجة فإنه من الصعب التحقق فيما إذا كان تثبيطُ تخليق الأحماض الصفراوية يحدث بشكل رئيس عند خطوة مختزلة HMG-CoA أو عند تفاعل الهيدروكسيلاز– α7. ويخضع كلا الإنزيمين إلى تباينات يومية متماثلة في الفاعلية. وقد تم إثبات حدوث تحريض جين الهيدروكسيلاز– α7 بالكوليسترول فى الغذاء، وكظمه بالأحماض الصفراوية عن طريق تفعيل الكيناز C البروتيني. وفي هذا الشأن، تكون عودة الأملاح الصفراوية إلى الكبد عن طريق الدم المعوي الكبدي نقطة مراقبة هامة؛ لأنه، فيما لو أُعيق، يؤدي إلى تفعيل الهيدروكسيلاز α7–. ويمكن التحكم بالهيدروكسيلاز α7– (وكذلك بمختزلة HMG-CoA) عن طريق الفسفتة ونزع الفسفات التكافؤي. وعلى العكس من مختزلة HMG-CoA، فإن الشكل المفسفت هو الذي يؤدي إلى زيادة فعالية الهيدروكسيلاز – α7.



الشكل 7-28 : التخليق الحيوي للأحماض الصفراوية وتدركها. عند النجمة: خطوة محفزة بإنزيمات جرثومية.

المظاهر السريرية:

يرتبط الكوليسترول المصلي مع حدوث التصلب العصيدي والداء القلبي التاجي:

غالباً ما ينفرد الكوليسترول، من بين الشحميات في المصل، ليكون له الأهمية الرئيسية في هذه العلاقة. بينما تبدي المعالم الأخرى ـ مثل تركيز ثلاثي أسيل الجليسرول في المصل ـ علاقات أضعف.

يتميز التصلب العصيدي بترسب كوليسترول وإستر كوليستريل البروتينات الشحمية المحتوية على apo B-100 في النسيج الضام للجدران الشريانية. وغالباً ما تترافق الأمراض التي توجد فيها مستويات مرتفعة لفترة طويلة من VLDL و IDL وبقايا الدقائق الكيلوسية أو LDL في الدم (مثل الداء السكري والكلاء الشحمي وقصور الدرقية وحالات أخرى من فرط شحوم الدم) مع تصلب فى الشرايين مبكر أو أكثر وخامة. وتوجد أيضاً علاقة عكسية بين تراكيز (HDL (HDL2 وداء القلب التاجي، ويعتقد البعض أن العلاقة الأكثر تكهناً هي نسبة كوليسترول LDL إلى كوليسترول (LDL:HDL) HDL. ويمكن تفسير هذه العلاقة اعتماداً على الأدوار المفترضة لـ LDL في نقل الكوليسترول إلى الأنسجة، ولـ HDL الذي يعمل كلاقط (كناس) للكوليسترول في النقل المعاكس للكوليسترول.

تشير تجارب تحريض التصلب العصيدي عند الحيوانات، إلى وجود اختلاف واسع بين الأنواع في الاستعداد للإصابة. فكل من الأرنب والخنزير والقرد والإنسان أنواع يمكن تحريض التصلب العصيدي عندها بالتغذية بالكوليسترول. أما الجرذ والكلب والهر فهي مقاومة له. ويسمح استئصال الدرقية (Thyroidectomy) أو المعالجة بأدوية الثيويوراسيل بتحريض التصلب العصيدي في الكلب والجرذ. ويكون كوليسترول الدم المنخفض مميزاً إفراز الغدة الدرقية.

تلعب التغيرات في الغذاء دوراً مهماً في تخفيض كوليسترول المصل:

تلعب العوامل الوراثية أكبر دور في تحديد تراكيز كوليسترول الدم عند الأفراد، لكن من بين العوامل الغذائية والبيئية التي تخفض كوليسترول الدم، يكون لاستبدال

بعض الأحماض الدهنية المشبعة بأحماض دهنية متعددة اللاإشباع وأحادية اللاإشباع في الغذاء الفائدة الأكبر. فالزيوت الموجودة طبيعياً التي تحوي نسبة عالية من الأحماض الدهنية متعددة اللاإشباع تضم زيت عباد الشمس وبذور القطن والذرة وزيت فول الصويا وزيت الزيتون الذي يحوي تركيزاً مرتفعاً من الأحماض الدهنية أحادية اللاإشباع. من جانب آخر، يحوي دهن الزبدة ودهن البقر وزيت النخيل على نسبة مرتفعة من الأحماض الدهنية المشبعة. ويكون لكل من السكروز والفركتوز تأثير أكبر في رفع شحميات الدم، بخاصة الجليسرولات ثلاثية الأسيل، أكثر مما تفعله السكريات الأخرى.

إن السبب في تأثير الأحماض الدهنية متعددة اللاإشباع الخافض للكوليسترول غير واضح بعد. ومع هذا، فلقد ظهرت عدة فرضيات، منها تنبيه إفراغ الكوليسترول في الأمعاء وتنبيه أكسدة الكوليسترول إلى الأحماض الصفراوية. ويثبط الغذاء الغني بالبلميتات تحول الكوليسترول إلى الأحماض الصفراوية. ويتوافر دليل آخر على أن التأثير ناجم عن انزياح في توزع الكوليسترول من البلازما إلى الأنسجة بسبب ازدياد معدل تقويض الـ LDL الناجم عن التنظيم الصاعد لمستقبلة الـ LDL بالأحماض الدهنية أحادية ومتعددة اللاإشباع، وعن التنظيم الأدنى بالأحماض الدهنية المشبعة. وتسبب الأحماض الدهنية المشبعة تشكيل جسيمات VLDL أصغر تحوي كوليسترولاً أكثر نسبياً، وهي تستخدم في الأنسجة غير الكبدية بمعدل أبطأ من الجسيمات الأكبر، مما يدعو أن ينظر إليها كعوامل موّلدة للعصيدة.

يؤثر طراز الحياة في مستوى كوليسترول المصل:

يعتقد أن هناك عوامل إضافية تلعب دوراً في داء القلب التاجي، وهي تشمل ارتفاع ضغط الدم والتدخين والجنس المذكر والبدانة (بخاصة البدانة البطنية) وقلة التمارين أو عدمها وتناول الماء اليسر (الخالي من الأملاح المعدنية) بدل الماء العسر. ويؤدي ارتفاع الأحماض الدهنية الحرة في البلازما أيضاً إلى زيادة إفراز VLDL من الكبد، وهذا يتضمن نتاجاً إضافياً من ثلاثي أسيل الجليسرول والكوليسترول إلى الدم. وتشمل العوامل التي تؤدي إلى مستويات مرتفعة أو غير مستقرة من الأحماض الدهنية الحرة كلاً من الكرب العاطفي وتدخين السجائر وشرب القهوة

وتناول بضع وجبات كبيرة عوضاً عن تناول الطعام المتواصل أكثر. ويبدو أن النساء قبل سن الإياس لديهن وقاية ضد العديد من هذه العوامل الضارة، من المحتمل لأن لديهن تركيز الـ HDL أعلى من التي عند الرجال والنساء بعد سن الإياس. والمثير في الأمر أن الدراسات قد بينت وجود علاقة بين الاستهلاك المعتدل للكحول وانخفاض حدوث داء القلب التاجي. وقد يكون هذا ناجماً عن ارتفاع تراكيز HDL بسبب ازدياد تخليق apo A-I والتبدلات في نشاط البروتين الناقل لإستر الكوليستريل. ويدعي البعض بأن النبيذ الأحمر نافع على نحو خاص، ربما بسبب احتوائه على مضادات التأكسد.

تؤثر التمارين المنتظمة في مظهر الشحميات البلازمية بشكل إيجابي. حيث تنقص تراكيز الكوليسترول الكلي نتيجة انخفاض LDL، في حين يرتفع الـ HDL. كما تنخفض تراكيز ثلاثي أسيل الجليسرول، الناجمة على الأرجح عن ازدياد الحساسية للإنسولين، التي تعزز تعبير ليباز البروتين الشحمي.

عندما تخفق التغييرات في الغذاء، فإن الأدوية الخافضة لشحوم الدم سوف تنقص الكوليسترول وثلاثي أسيل الجليسرول في المصل:

يمكن معالجة فرط كوليسترول الدم بقطع الدم المعوي الكبدي للأحماض الصفراوية. ويمكن إحداث انخفاضات معتبرة في كوليسترول البلازما باستخدام راتنج الكولسترامين (Cholestyramine resin) أو جراحياً بعمليات استئصال اللفائفي. ويسبب كلا الإجرائين إحصاراً في إعادة امتصاص الأحماض الصفراوية. ومن ثم، وبسبب التخلص من التنظيم بالتلقيم الراجع الذي تمارسه في الحالة السوية الأحماض الصفراوية، فإنه يتعزز بشكل كبير تحول الكوليسترول إلى الأحماض الصفراوية في محاولة للمحافظة على جميعة الأحماض الصفراوية. ونتيجة لذلك، تكون مستقبلات في الكبد خاضعة للتنظيم الصاعد، مما يسبب ازدياداً بقبط الـ LDL مع التخفيض اللاحق بكوليسترول البلازما.

من جانب آخر يعد السيتوستيرول (Sitosterol) عاملاً خافضاً لكوليسترول الدم يعمل عن طريق إحصار (إعاقة) امتصاص الكوليسترول من السبيل المعدي المعوي.

تعرف أدوية عديدة بأنها تعيق تشكيل الكوليسترول في مراحل مختلفة من سبيل التخليق الحيوي. وتنقص المثبطات الفطرية لردكتاز HMG -CoA الميڤاستاتين (Mevastatin) واللوڤاستاتين (Lovastatin)، مستويات كوليسترول الـ LDL عن طريق التنظيم الصاعد لمستقبلات LDL. أما الكلوفيبرات (Clofibrate) والجمفبروزيل (Gemfibrozil) فهي تظهر جزءاً على الأقل من تأثيرها الخافض لشحوم الدم (بشكل رئيسي على ثلاثي أسيل الجليسرول) عن طريق تحويل التدفق الكبدي للأحماض الدهنية الحرة من سبل الأسترة إلى سبل الأكسدة، فيتناقص بذلك إفراز ثلاثي أسيل الجليسرول والـ VLDL المحتوي كوليسترول من الكبد. إضافة إلى ذلك فهي تنبه حلمهة ثلاثيات أسيل جليسرول الـ VLDL بليباز البروتين الشحمي. ويبدو أن البروبوكول (Probucol) يرفع تقويض LDL عن طريق سبل غير معتمدة على المستقبلات، لكن يمكن أن تكون خواصه المضادة للتأكسد أكثر أهمية في منع تراكم الـ LDL المؤكسد في الجدران الشريانية. وقد يكون الـ LDL المؤكسد هو السبب الرئيسي للتصلب العصيدي لأنه يقبط عن طريق مستقبلات لاقطة في البلاعم التي تتحول إلى خلايا رغوية تشكل خطوطاً شحمية يُعتقد أنها طلائع العصيدة. وينقص حمض النيكوتينيك (Nicotinic acid) تدفق FFA عن طريق تثبيط تحلل الشحم في النسيج الشحمي، فيثبط بذلك إنتاج VLDL من قبل الكبد.

تكون الاضطرابات الأولية في البروتينات الشحمية البلازمية (حالات خلل البروتين الشحمي في الدم) وراثية:

يبدي عدد قليل من الأفراد عيوباً وراثية في أيض البروتين الشحمي، تؤدي إلى الحالة الأولية سواء نقص أو فرط البروتينات الشحمية في الدم Hypo- or hyperlipoproteinemia) (الجدول 28-1) ويظهر الكثير من الآخرين الذين يعانون من أمراض، مثل داء السكري وقصور الدرقية والداء الكلوي (المتلازمة الكلائية) والتصلب العصيدي، نماذجاً ثانوية من البروتينات الشحمية الشاذة تكون مشابهة كثيراً لحالة أو لأخرى من الحالات الوراثية الأولية. وتنجم كل هذه الحالات الأولية فعلياً عن عيب في مرحلة من مراحل تشكيل البروتين الشحمي أو نقله أو تخريبه (انظر الأشكال 27-4 و 28-5 و 28-6). ولا تكون كل الحالات الشاذة ضارة.

الجدول 28-1 : الاضطرابات الأولية في البروتينات الشحمية البلازمية (حالات خلل البروتينات الشحمية في الدم).

الاسم	العيب	ملاحظات
نقص البروتينات الشحمية في الدم Hypolipoproteinemias فقد البروتين الشحمي بيتا في الدم Abetalipoproteinemia	لا تتشكل دقائق كيلوسية أو VLDL أو LDL ، بسبب عيب في البروتين الناقل لثلاثي أسيل الجليسرول (MTP) الذي يمنع تحميل apo B بالشحم.	نادر، وتكون جليسرولات الأسيل منخفضة في الدم، وتتراكم جليسرولات الأسيل في كل من الأمعاء والكبد. موت مبكر، ويمكن تجنبه بإعطاء جرعات كبيرة من الڤيتامينات الذوابة في الدهون، بخاصة الڤيتامين E.
نقص البروتين الشحمي العائلي بيتا من الدم	تركيز LDL هو 10-60٪ من السوي. توجد أنواع من apo B ناقصة.	يبقى تشكل الدقائق الكيلوسية مستمراً، ويتمتع معظم الأفراد المصابين بصحة جيدة وعمر طويل.
عوز البروتين الشحمي ألفا العائلي؛ داء تانجييه Tangier داء عين السمك حالات عوز apo -A-I	عند الجميع نقص أو فقدان الـ HDL.	لا يوجد خلل في تشكيل الدقائق الكيلوسية أو VLDL. ولا يوجد قبل البروتين الشحمي بيتا، لكن توجد عصابة بيتا عريضة في الرحلان الكهربائي على الآجاروز، مع ميل باتجاه فرط ثلاثي أسيل الجليسرول في الدم نتيجة لغياب apo -C-II مسبباً تعطيل LDL وتوجد مستويات منخفضة من LDL. ويحدث التصلب العصيدي عند الكهول.
فرط البروتينات الشحمية في الدم Hyperlipoproteinemias عوز ليباز البروتين الشحمي العائلي (النمط I)	فرط ثلاثي أسيل الجليسرول في الدم الناجم عن : (1) عوز LPL، (2) أو إنتاج LPL شاذ، (3) أو عوز apo C-II الذي يؤدي إلى LPL غير فعال.	تصفية بطيئة للدقائق الكيلوسية و VLDL، مستويات منخفضة من LDL و HDL. المعالجة بتخفيض الدهون وزيادة السكريات المعقدة في الغذاء. لا يزداد عامل خطورة الداء التاجي.
فرط كوليسترول الدم العائلي (النمط II)	النمط IIa: مستقبلات LDL معيبة، أو طفرة في منطقة ربط apoB-100. النمط IIb: الميل لأن تكون VLDL مرتفعة أيضاً.	يؤدي انخفاضُ معدل تصفية LDL إلى ارتفاع مستويات LDL وفرط كوليسترول الدم، مما يؤدي إلى التصلب العصيدي والداء التاجي.

الاسم	العيب	ملاحظات
داء وولمان Wolman (داء اختزان أستر الكولستريل)	عوز هيدرولاز إستر الكولستريل في الجسيمات الحالَّة بالخلايا، كما في الأرومات الليفية التي تستقلب LDLبشكل طبيعي.	تناقص معدل تصفية الـ LDL، والنتائج هي كما ذُكر أعلاه.
فرط البروتينات الشحمية العائلي من النمط III (داء بيتا العريضة، داء إزالة البقايا، خلل البروتين الشحمي بيتا العائلي).	عوز في تصفية البقايا من قبل الكبد، بسبب شذوذ في apo E ، الذي يوجد بشكل طبيعي في ثلاثة أشكال متماثلة هي: E2 و E3وE4. ويكون لدى المرضى E2 فقط، الذي لا يتفاعل مع مستقبل E(*).	زيادة في الدقائق الكيلوسية وبقايا VLDL ذات الكثافة < 1.019، التي تظهر كعصابة بيتا عريضة في الرحلان الكهربائي (β-VLDL) وتسبب فرط كوليسترول الدم والصفرومات والتصلب العصيدي في الشرايين المحيطية والتاجية.
فرط ثلاثي أسيل الجلسيرول العائلي في الدم (النمط IV)	فرط إنتاج VLDL، يترافق غالباً مع لا تحمُّل الجلوكوز وفرط الإنسولين بالدم، الذي قد يكون سبباً لفرط الإنتاج.	ترتفع مستويات الكوليسترول مع تركيز VLDL. ويميل كل من LDL وHDL إلى أن يكونا أقلَّ من الطبيعي. وكثيراً ما يترافق هذا النمط مع الداء القلبي التاجي والداء السكري غير المعتمد على الإنسولين (النمط II) والبدانة والكحولية وإعطاء الهرمونات البروجسترونية.
فرط البروتينات الشحمية العائلي من النمط V	ارتفاع الدقائق الكيلوسة و VLDL. غير مفهوم تماماً، لكن من المحتمل تورط العيوب في LPL و apoC-II فيه.	فرط ثلاثي أسيل الجليسرول في الدم وفرط كوليسترول الدم، مع انخفاض LDL وHDL. إزدياد خطورة الداء القلبي التاجي عند بعض المرضى.
فرط البروتينات الشحمية ألفا العائلي في الدم	تراكيز مرتفعة من HDL	حالة نادرة مفيدة ظاهرياً للصحة ولطول العمر.

(*) توجد علاقة بين المرضى الذين يملكون أليل apo-E4 وحدوث داء ألزهايمر (Alzheimer). ومن الواضح أن apo E4 يرتبط بقوة أكبر إلى النشواني (الذي يوجد في اللويحات العصبية الالتهابية).

الاسم	العيب	ملاحظات
عوز الليباز الكبدية	عـوز في الإنزيم يؤدي إلى تراكم الـ HDL الغني بثــلاثي أســيل الجليسرول الكبير وبقايا VLDL.	يظهـر عند المرضى صــفـرومــات (Xanthomas أورام صفراء) والداء القلبي التاجي.
عوز ناقلة أسيل ليستين: كوليسترول LCAT) العائلي	يؤدي غياب LCAT إلى إحصـار نقل الكوليسترول المعكوس. ويبقى HDL كأقراص وليدة في أكداس أو لفـائف، غـير قـادرة على قـبط الكوليسترول وأسترته.	تكون تراكيـز إسـترات الكولسـتريل والليـزوليـســثين منخـفـضــة في البلازما. ويوجد جزء شاذ من LDL ويوجد البروتين الشـحمي X، الذي يوجـد أيضاً عند المرضى المصـابين بالركود الصفراوي. ويكون VLDL شاذاً (β-VLDL).
فرط البروتين الشحمي (a) العائلي	يتــألف Lp(a) من 1 جـزئى من LDLمـرتبط بـ 1 جـزئى من apo (a). ويبــدي apo(a) بنيــة مماثلة للبلازمينوجين.	داء قلبي تاجي مـــبكر ناجم عن التصلب العصيدي، بالإضـافة إلى الخــثــار الناتج عن تثــبـيط تحلُّل الفيبرين.

الخلاصة:

1- الكوليســتـرول هو طليـعـة جـمـيع السـتـيـرويدات الأخـرى في الجـسم، مـثل السـتيرويدات القشرية والهرمونات الجنسـية والأحماض الصفراوية والڤيتامين D. كما أنه شـحم متقابل الزمر مـهم، ولذلك يسـمح له بـأن يلعب دوراً بنيوياً في الأغشية وفي الطبقة الخارجية للبروتينات الشحمية.

2 – يتم تخليق الكوليسـترول في الجـسم بشكل كامل بدءاً من أسـيتيل -CoA في سبيل مركب حيث تشكل ثلاث جزيئات من أسيتيل -CoA الميڤالونات، عن طريق تفاعل مـهم محدد للمعدل بـالسبيل، يحفز بمـختزلة HMG -CoA. وتتشكل وحدة الإيزوبرينويد خـمـاسـيــة الكربون من الميـڤـالونات، وتتكاثف ست وحـدات منهـا لتشكيل السكوالـين، الذي يخـضـع لإغـلاق الحلقـة ليشكل السـتـيـرويد الأم أي اللانوستيرول، الذي يشكل الكوليسترول بعد خسارته ثلاث زمر ميثيلية.

3 – ينظم تخليق الكوليسترول في الكبد جزئياً عن طريق تدفق الكوليسترول الغذائي في بقايا الدقائق الكيلوسية الغنية بالكوليسترول. وتتم في الأنسجة عموماً المحافظة على توازن الكوليسترول، بين العوامل المسببة لزيادة الكوليسترول (مثل التخليق، والقبط عن طريق مستقبلات LDL أو المستقبلات اللاقطة، وحلمهة إستر الكولستريل والعوامل المسببة ضياع الكوليسترول؛ مثل تخليق الستيرويدات وتشكيل إستر الكولستريل، ونقل الكوليسترول العكسي عن طريق HDL). ويتم التنظيم الأدنى لنشاط مستقبلة LDL بالمستوى المرتفع من الكوليسترول بالخلية، والتنظيم الصاعد عندما ينفد الكوليسترول.

4 – يرتبط الـ HDL في نقل الكوليسترول العكسي، بمستقبل apo A-1 مسبباً إزفاء الكوليسترول إلى غشاء الخلية، حيث يقبط من قبل HDL . ويكون كل من قبل β-HDL و الـ HDL القرصي و HDL_3 نشيط في هذه العملية. وتجري المحافظة على المدروج التركيزي بتأثير فعالية LCAT، التي تسمح بأسترة الكوليسترول وتوضعه في لب الـ HDL الذي يتحول إلى الـ HDL_2. ويؤخذ إستر الكولستريل الموجود في HDL من قبل الكبد، إما مباشرة ـ تاركاً HDL_3 و apo A-1 لتدخل الدم من جديد، أو بعد نقله إلى VLDL أو IDL أو LDL عن طريق البروتين الناقل لإستر الكولستريل.

5– يفرغ الكوليسترول الفائض من الكبد في الصفراء على شكل كوليسترول أو أملاح صفراوية. وتمتص نسبة عالية من الأملاح الصفراوية إلى الدم البابي، ويعود إلى الكبد كجزء من الدم المعوي الكبدي.

6 – تترافق المستويات المرتفعة من الكوليسترول الموجود في VLDL أو IDL أو LDL مع التصلب العصيدي، في حين أن للمستويات العالية من HDL تأثيراً وقائياً.

7 – يكون لدى قلة من الأفراد عيوباً وراثية في أيض البروتين الشحمي تؤدي إلى حالة أولية من نقص أو فرط البروتين الشحمي في الدم. في حين أن العديد من الآخرين المعانين من حالات مثل الداء السكري وقصور الدرقية والداء الكلوي والتصلب العصيدي، يبدون نماذج شاذة ثانوية من البروتين الشحمي، تكون مشابهة لحالة أو لأخرى من الحالات الأولية.

*** References:**

Kane JB,Havel RJ: Treatment of hypercholesterolemia. *Ann Rev Med* 1986;37-427.

Mendez AJ, Oram JF, Bierman EL: Protein Komase C as a mediator of high density lipoprotein receptor dependent effiux of intracelluar cholesterol.

J Biol Chem 1991;266:10104.

Report of the Expert panel on Detection. Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Aduls. NIH Publication No, 88-2925, January 1988.

Russell DW: Cholesterol Biosynthesis and metabolism Cardiovascular *Drugs Therap* 1992;6:103.

Russel DW, Setchell KDR: Bile acid biosynthesis. *Biochemistry* 1992;31:4737.

Schonfeld G: The hypobetalipoproteinemias. *Annu Rev Nutr* 1995;15:23.

Spady DK, Woollett LA, Dietschy JM: Regulation of plasma LDL-cholestrol levels by dietary cholestrol and fatty acids. *Annu Rev Nutr* 1993;13:335.

Tall A: Plasma lipid transfer proteins. *Annu Rev Biochem* 1995;64:235.

Various authors; The cholesterol facts- A summary of the evidence relating dietary fats, serum cholestrol, and coronary heart disease. *Circulation* 1990;81:1721.

Various authors: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. Vacne DE, Vance JE (editors). Elsevier, 1996.

Various authors: The hypertriglyceridemias: Risk and management. *Am J Cardiol* 1991;68:1A.

Zhang FL, Casey pJ: Protein prenylation: Molecular mechanisms and functional consequences. *Annu Rev Biochem* 1996;65:241.

الفصل التاسع والعشرون

تكامل الأيض وتزويد الأنسجة بالوقود

Integration of Metabolism and the Provision of Tissue Fuels

مقدمة:

تلعب السكريات والشحميات العديد من الأدوار البنيوية والأيضية، لكن بما أنها تؤمن نسبة من الطاقة الغذائية فهي تتمتع بالتأثير الأكبر في الأيض والصحة. ويحظى تنظيم تدفق هذا الوقود والأسلوب الذي يتكامل فيه مع وقود الأنسجة الأخرى باهتمام أساسي لأنه يؤثر في العديد من العمليات الأيضية الأخرى وهي مرتبطة بالأمراض الأيضية.

الأهمية الطبية البيولوجية:

تختزن في حالة التوازن الحروري الإيجابي نسبة معتبرة من مدخول طاقة الغذاء إما على شكل جليكوجين أو دهن. فإذا كان الغذاء مؤلفاً بشكل أساسي من السكريات، فإن الجلوكوز سيكون هو الوقود الأساسي للأنسجة. إلا أنه في بعض الأنسجة، حتى في ظروف الإطعام، تؤكسد الأحماض الدهنية أفضل من الجلوكوز، لكن يجري ذلك بشكل خاص في حالات نقص الطاقة أو الجوع (المخمصة: Starvation). والهدف من ذلك هو استبقاء الجلوكوز لتلك الأنسجة (مثل الدماغ والكريات الحمراء) التي تحتاجه في كل الظروف. وبذلك فإن آليات التنظيم،

المتواسطة بالهرمونات تضمن غالباً توفير وقود مناسب لكل الأنسجة، في كل الأوقات، من حالة الإطعام الكامل إلى حالة الجوع الكامل. ويجري تعليل هذه الآليات بسبب: اللاتوازن الهرموني (مثل عوز الإنسولين في الداء السكري)، أو بسبب اللاتوازن الأيضي الناجم عن الإرضاع المسرف (مثل فرط كيتون الجسم عند قطعان الماشية)، أو بسبب الاحتياجات الأيضي الكثيرة خلال الحمل (مثل داء الحمل التوأم عند النعاج). وكل هذه الظروف هي أمثلة شديدة عن الزيغ (الاضطراب) المرضي لمتلازمة الجوع (المخمصة) الطبيعي والذى هو من مضاعفات العديد من الحالات الطبية عندما تتناقص الشهية أو عند وجود حمل أيضي إضافي مثل الحمل والإرضاع عندما يكون الطعام غير كاف.

ليست كل المواد الغذائية الرئيسة قابلة للتحول البيني (الشكل 29-1):

يمكن تسمين الحيوانات بوضعها على غذاء تسود فيه الكربوهيدرات (السكريات) وهذا يثبت سهولة تحول الكربوهيدرات إلى دهون. لكن، كما سبق وأشرنا إليه أعلاه، أنه عند الإنسان سعة محدودة على تحويل الجلوكوز إلى أحماض دهنية، بخاصة في النسيج الشحمي. والتفاعل الأكثر أهمية في هذا الشأن هو تحول البيروفات إلى أسيتيل -CoA، حيث أن الأسيتيل -CoA هو المادة الأولية لتخليق الأحماض الدهنية طويلة السلسلة. وإذا أخذنا في الحسبان العملية العكسية، أي تحول الأحماض الدهنية إلى جلوكوز فإن تفاعل نازعة هيدروجين البيروفات هو لا عكسي جوهرياً ويمنع تحول أسيتيل -CoA المباشر إلى بيروفات. إضافة إلى ذلك، لا يمكن أن يوجد تحول صاف لأسيتيل -CoA إلى الأكسالوأسيتات عن طريق دورة حمض السيتريك، لأنه يلزم جزيء واحد من الأكسالوأسيتات ليتكاثف مع أسيتيل -CoA ويعاد توليد جزيء واحد فقط من الأكسالوأسيتات.

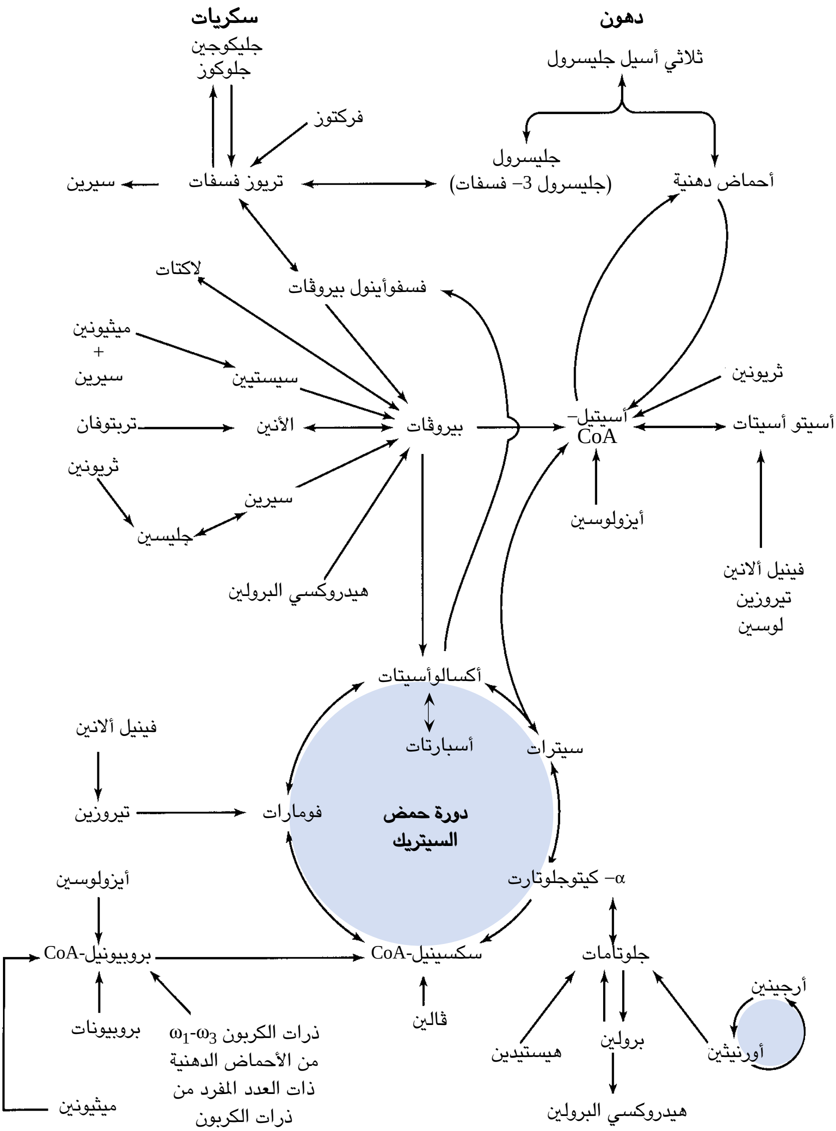
ولأسباب مماثلة، لا يمكن أن يحدث تحول صاف للأحماض الدهنية ذات العدد الزوجي من ذرات الكربون (التي تشكل أسيتيل -CoA) إلى جلوكوز أو جليكوجين.

ويكون الجزء الطرفي ثلاثي الكربون من الحمض الدهني الذي يحوي عدداً فردياً من ذرات الكربون هو فقط المولد للسكر (Glucogenic)، لأن هذا الجزء من الجزيئة يشكل في النهاية بروبيونيل -CoA بتأثير الأكسدة البتائية (الفصل 21). مع ذلك فإنه من الممكن لذرات الكربون الموسومة التابعة للأحماض الدهنية أن تتواجد في نهاية الأمر في الجليكوجين، بعد عبورها دورة حمض السيتريك. وهذا لأن الأكسالوأسيتات متوسط في كل من دورة حمض السيتريك وفي سبيل استحداث السكر. ويشكل الجزء الجليسرولي من ثلاثي أسيل الجليسرول الجلوكوز بعد تنشيطه إلى جليسرول 3- فوسفات، ويعد هذا مصدراً مهماً للجلوكوز في الجوع.

يمكن إنتاج العديد من الهياكل الكربونية للأحماض الأمينية غير الأساسية بدءاً من السكريات، عن طريق دورة حمض السيتريك ونقل الأمين. وبعكس هذه العمليات تعطي الأحماض الأمينية المولدة للسكر هياكل كربونية والتي تكون إما أعضاء أو طلائع في دورة حمض السيتريك. وبذلك فهي تتحول بسرعة إلى جلوكوز وجليكوجين بسبيل استحداث السكر. وتبعث الأحماض الأمينية المولدة للكيتون على تشكيل الأسيتوأسيتات، الذي سيستقلب (يتحول عن طريق الأيض) بدوره كأجسام كيتونية مشكلاً أسيتيل -CoA في الأنسجة غير الكبدية.

وللأسباب ذاتها، فإنه ليس ممكناً حدوث تحول الأحماض الدهنية نهائياً إلى السكريات، كما أنه من غير المحتمل أن يجري تحول الأحماض الدهنية بشكل نهائي إلى أحماض أمينية مولدة للسكر. وليس ممكناً عكس سبل تحطيم الأحماض الأمينية المولدة للكيتون وأخرى غيرها، والتي تقع في مجموعة الأحماض الأمينية الأساسية (الضرورية) تغذوياً. ويكون تحول الهياكل الكربونية للأحماض الأمينية المولدة للسكر إلى أحماض دهنية أمراً ممكناً إما عن طريق تشكيل البيروفات وأسيتيل -CoA أو عن طريق عكس التفاعلات اللامتقدرية لدورة حمض السيتريك من α- كيتو جلوتارات إلى السيترات، ويلي ذلك تأثير لياز – ATP سيترات ليعطي أسيتل -CoA (الفصل 23).

إلا أنه وبشكل عام، لا يعد التحول النهائي للأحماض الأمينية إلى دهن عملية مهمة. فحتى عند اللواحم الموضوعة على غذاء غني بالبروتين، يكون مدخول الدهن مرتفعاً أيضاً، وهذا يثبط تكون الشحم.



الشكل 29-1 : التحولات البينية للمواد الغذائية الرئيسية.

تشمل اقتصاديات أيض السكريات والشحميات الجسم بكامله:

الجلوكوز هو ضرورة أيضية للمخ والكريات الحمراء في جميع الحالات التغذوية:

لقد وصفت تفاصيل عديدة عن التفاعل بين أيض السكريات والشحميات في الأنسجة المختلفة، بخاصة التحول السريع للعديد من المواد المولدة للسكر إلى جلوكوز وجليكوجين في سبيل استحداث السكر. ويكون استحداث السكر هاماً على نحو خاص لأن بعض الأنسجة والأنماط الخلوية، ومنها الجهاز العصبي المركزي والكريات الحمراء معتمدة على تزويد مستمر بالجلوكوز. ويكون تأمين الحد الأدنى من الجلوكوز ضرورياً على الأرجح في الأنسجة غير الكبدية بهدف المحافظة على تراكيز الأكسالوأسيتات وسلامة دورة حمض السيتريك، إضافة إلى ذلك، إن الجلوكوز هو المصدر الرئيسي للجليسرول 3 – فسفات في الأنسجة الخالية من كيناز الجليسرول، مثل النسيج الشحمي. لذلك يكون هناك معدل أدنى وإلزامي لاستعمال الجلوكوز عند كل الظروف. وإن وجود كميات كبيرة من الجلوكوز ضروري أيضاً لتغذية الجنين ولتخليق اللاكتوز في الحليب. وهناك آليات معينة، بالإضافة إلى استحداث السكر، تعمل على ضمان تأمين الجلوكوز الضروري في أوقات نقصه بالسماح لركائز أخرى بأن تقتصد في أكسدة الجلوكوز.

إن الاستعمال الأمثل للأجسام الكيتونية والأحماض الدهنية الحرة يوفر الجلوكوز من أجل وظائفه الأساسية:

تقوم الأجسام الكيتونية والأحماض الدهنية الحرة بتجنيب الجلوكوز (توفيره) من الأكسدة في العضلات، عن طريق إعاقة دخوله إلى الخلية وفسفتته بالهكسوكيناز والفسفوفركتوكيناز ونزع كربوكسيله التأكسدي إلى البيروفات. وتسبب أكسدة الأحماض الدهنية الحرة والأجسام الكيتونية ازدياداً في بتركيز السيترات داخل الخلية، الأمر الذي يُثبط بدوره الفسفوفركتوكيناز تفارغياً. وتسبب أكسدة هذه الركائز أيضاً ارتفاع نسبة [أسيتيل -CoA] إلى [CoA] ونسبة [ATP] إلى [ADP]، مثَّبطة بذلك فاعلية نازعة هيدروجن البيروفات (الشكل 19-6). وتؤكد هذه الملاحظات وغيرها بأنه تجري أكسدة الأسيتوأسيتات في القلب المروى أفضل

من أكسدة الأحماض الدهنية الحرة، وهذا يثبت الاستنتاج القائل إنه في ظروف نقص السكريات يؤكسد الوقود المتوافر وفقاً للتسلسل التالي من حيث الأفضلية: (1) الأجسام الكيتونية (ومن المحتمل الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة كالأسيتات)؛ (2) الأحماض الدهنية الحرة؛ و (3) الجلوكوز. لكن هذا لا يدل إلى أن أكسدة أي وقود خاص تؤدي إلى الاستبعاد الكلي لأي من أنواع الوقود الأخرى، حيث تجري إعادة استخدام مزيج من أنواع الوقود المختلفة (الشكل 29-2). وهذه الآليات أكثر أهمية في الأنسجة التي تتمتع بسعة مرتفعة من الأكسدة الهوائية للأحماض الدهنية مثل القلب والعضلات ذات النفضة البطيئة، أكثر منها في الأنسجة ذات السعة المنخفضة، مثل العضلات ذات النفضة السريعة.

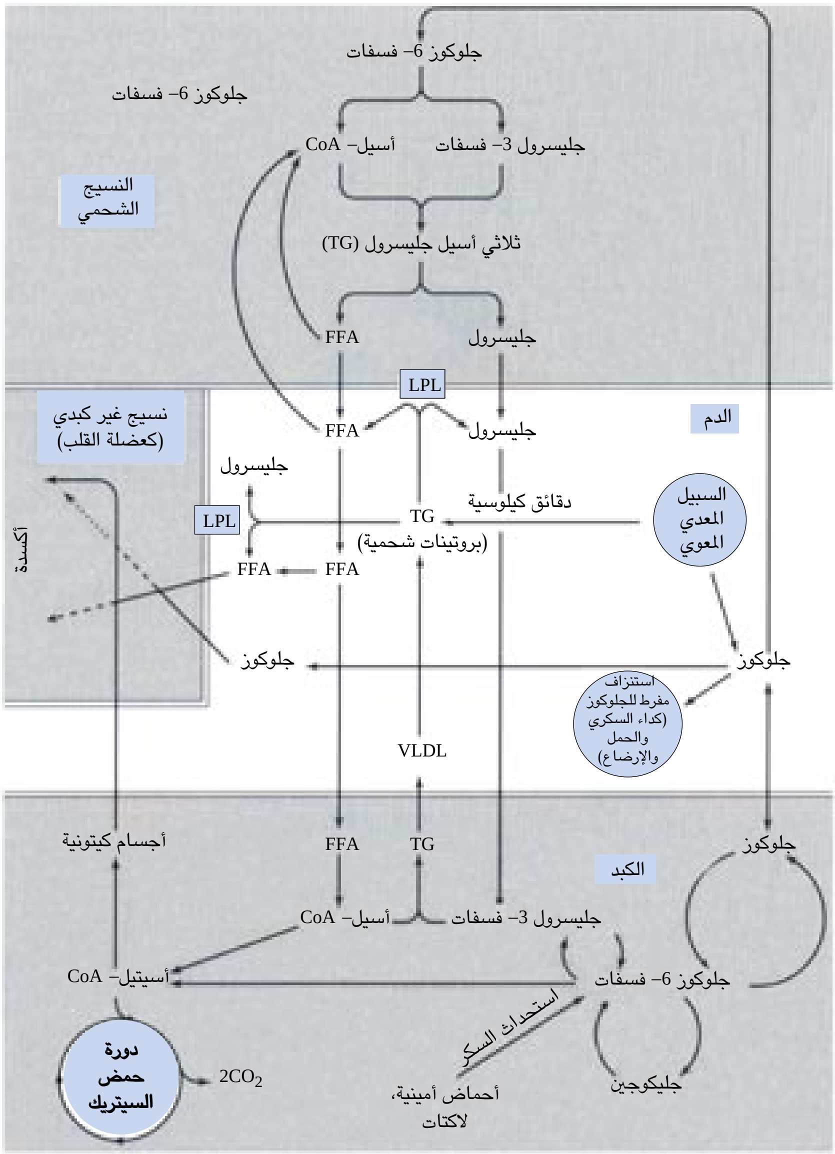
يعرف مجموع تأثيرات الأحماض الدهنية الحرة في توفير استعمال الجلوكوز في العضلات والقلب، وتأثير التلقيم الراجع للجلوكوز الموفر (من الأكسدة) في تثبيط تحريك الأحماض الدهنية الحرة في النسيج الشحمي، بدورة الجلوكوز والأحماض الدهنية (Glucose-Fatty Acid Cycle). إن الشحميات هي الوقود الأساسي عند ممارسة التمارين الثابتة باعتدال، لكن عند ممارسة التمارين الثابتة بشدة فإنه يصبح أقل كفاية، فتقوم السكريات بدور الوقود الرئيسي حتى يتم استنفاد جليكوجين العضلات. وتحظى مخازن ثلاثي أسيل الجليسرول في الخلايا العضلية بأهمية إضافية لأنها تستطيع بنفسها استخدامه كوقود.

يتوفر للأنسجة تزود مستمر من الوقود خلال الجوع:

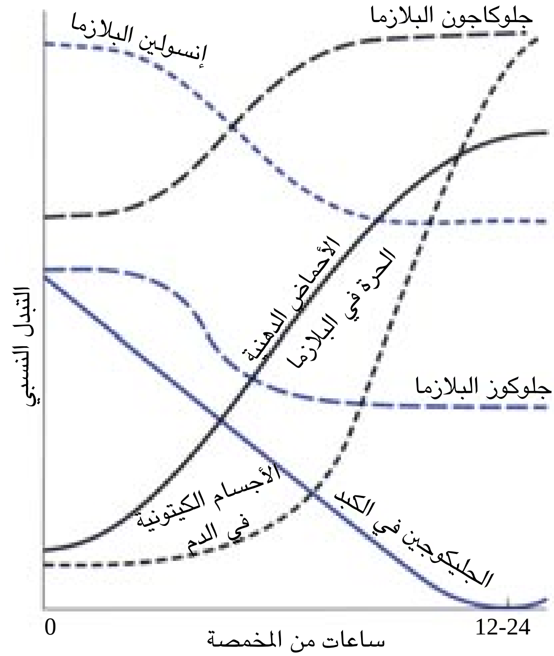
توفر أكسدة الأحماض الدهنية عند الحيوانات الموضوعة على غذاء يحوي نسبة مرتفعة من الكربوهيدرات. وهذا لأنه يجري تثبيط تحلل الشحم في النسيج الشحمي بسبب التراكيز المرتفعة من الجلوكوز والإنسولين في الدم، وبذلك تبقى مستويات الأحماض الدهنية الحرة منخفضة (الشكل 29-3). وعند الإنسان الذي يتغذى بشكل طبيعي، تكون نسب الغذيات الحرورية المختلفة المؤكسدة محددة تبعاً لنسب وجودها في الغذاء. وعندما يمر الحيوان من حالة الإطعام إلى حالة الصيام، يصبح توافر الجلوكوز من الطعام أقل، ويسحب جليكوجين الكبد في محاولة للمحافظة على جلوكوز الدم. ويتناقص تركيز الإنسولين في الدم في حين يرتفع تركيز

الجلوكاجون. ويتناقص استعمال الجلوكوز في النسيج الشحمي ويصبح التأثير المثبط للإنسولين في تحلل الشحم أقل، ويجري تحريك الدهون على شكل أحماض دهنية حرة وجليسرول. وتنقل الأحماض الدهنية الحرة إلى الأنسجة، حيث تجري أكسدتها أو أسترتها. وينضم الجليسرول إلى جميعة الكربوهيدرات (السكريات) بعد تنشيطه إلى جليسرول 3– فسفات في الكبد والكلية بشكل رئيس. وخلال طور العبور هذا من حالة الإطعام الكامل إلى حالة الصيام التام، فإن إنتاجُ الجلوكوز داخلي المنشأ (من الأحماض الأمينية والجليسرول) لا يتوافق مع استعماله وأكسدته، لأن مخازن الجليكوجين الكبدية تصبح مستنفدة ويميل جلوكوز الدم إلى الانخفاض. لذلك يتم تحريك الدهن بمعدل متزايد، وخلال عدة ساعات تستقر مستويات كل من الأحماض الدهنية الحرة البلازمية وجلوكوز الدم عند المستوى الصيامي (0.7-0.8 و 3.3-3.9 ممول/ل) على الترتيب. وعند هذه النقطة، ينبغي الافتراض بأن التزويد بالجلوكوز للحيوان بكامله يوازن الاحتياجات الإلزامية لاستعمال الجلوكوز وأكسدته. وينجز ذلك عن طريق زيادة أكسدة الأحماض الدهنية الحرة ونواتجها أي الأجسام الكيتونية، مما يجنب الأكسدة غير الإلزامية للجلوكوز. ويختل هذا التوازن الدقيق في الحالات التي تتطلب جلوكوزاً أكثر (مثل الحمل والإرضاع)، أو في الحالات التي يضطرب فيها استعمال الجلوكوز (كالداء السكري)، ويؤدي ذلك إلى تحريك إضافي للدهن. ويعد توفير الكربوهيدرات من قبل النسيج الشحمي على شكل جليسرول وظيفة مهمة لأنه يعد هو فقط مصدر هذه الكربوهيدرات إلى جانب ذلك المؤمن عن طريق استحداث السكر من البروتين وهو الذي يمكن أن يزود الكائن الحي الجائع (في الجوع) بالجلوكوز الضروري لتلك العمليات التي يجب أن تستعمل الجلوكوز. وفي الجوع طويل الأمد عند الإنسان، يتناقص استحداث الجلوكوز من البروتين بسبب نقص تحرر الأحماض الأمينية وبخاصة الألانين، من العضلات. ويتوافق هذا مع تلاؤم المخ لاستبدال نصف الجلوكوز المؤكسد تقريباً بالأجسام الكيتونية. وفي حالة الجوع طويل الأمد يساهم الجلوكوز أيضاً بأقل من 5٪ من إجمالي الركائز المؤكسدة في كامل الجسم.

إن الذي يحدث بعد إعادة التغذية بالجلوكوز للحيوانات الجائعة هو تكون الجليكوجين في الكبد عن طريق متوسطات ثلاثية ذرات الكربون، مثل اللاكتات، مما يشير إلى استمرار استحداث السكر لبعض الوقت بعد إعادة التغذية.



الشكل 29-2 : العلاقات الأيضية المتبادلة بين النسيج الشحمي والكبد والأنسجة غير الكبدية.(LPL: ليباز البروتين الشحمي؛ FFA: أحماض دهنية حرة؛ VLDL: البروتينات الشحمية وضيعة الكثافة).



الشكل 3-29 : التبدلات النسبية في المعالم الأيضية أثناء حدوث المخمصة (المجاعة).

فرط كيتون الجسم هو تلاؤم أيضي تجاه الجوع:

الوظيفة الأساسية لتكون الكيتون هي إزالة الفائض من كربون الأحماض الدهنية من الكبد في شكل تتم أكسدته بسهولة من قبل الأنسجة غير الكبدية عوضاً عن الجلوكوز. وينشأ فرط كيتون الجسم نتيجة عوز في توافر السكريات. والذي يكون له الأفعال التالية في تكون الكيتون المعزز (الشكلان 24-9 و 24-10): (1) يسبب عدم التوازن بين الأسترة وتحلل الشحم في النسيج الشحمي نتيجة انخفاض مستويات الإنسولين مع التحرير الناتج للأحماض الدهنية الحرة إلى الدورة الدموية. وتعد الأحماض الدهنية الحرة الركائز الأساسية لتشكيل الأجسام

الكيتونية في الكبد، وبذلك فإن كل العوامل الأيضية أو الصماوية المؤثرة في تحرير الأحماض الدهنية الحرة من النسيج الشحمي، تؤثر في تكون الكيتون. (2) عند دخول الأحماض الدهنية الحرة إلى الكبد يجري تنظيم التوازن بين أسترتها وأكسدتها بوساطة فعالية ناقلة بلميتويل الكارنيتين I، التي تزداد بتأثير تركيز الأحماض الدهنية الحرة وبازدياد نسبة الجلوكاجون إلى الإنسولين. (3) كلما ازدادت المدة الأحماض الأحماض الدهنية فإنه يزداد تشكيل الأجسام الكيتونية وتتشكل كمية أقل من CO_2 منها. وتنظم هذه العملية بالأسلوب الذي يبقى فيه الإنتاج الإجمالي للـ ATP في الكبد ثابتاً (الشكل 24-9). تستعمل الأجسام الكيتونية في الأنسجة غير الكبدية وفقاً لنسبة تركيزها في الدم.

قد تعمل آلية بالارتجاع (Feedback) للتحكم في إنتاج الأحماض الدهنية الحرة من النسيج الشحمي في الجوع، كنتيجة لفعل الأجسام الكيتونية والأحماض الدهنية الحرة، التي تنبه بشكل مباشر البنكرياس لإنتاج الإنسولين.

تتحرك الأحماض الدهنية الحرة، في معظم الظروف، بشكل يزيد عن المتطلبات التأكسدية، لذلك فإن قسماً كبيراً منها تتم أسترته حتى خلال الصيام. وبما أن الكبد يقبط ويؤستر قسماً كبيراً من نتاج الأحماض الدهنية الحرة، فهو يلعب دوراً منظماً في إزالة فائض الأحماض الدهنية الحرة من الدورة الدموية. وعندما يكون التزويد بالسكريات كافياً، فإنه تجري أسترة معظم المتدفق منها، ويعاد في النهاية نقلها من الكبد على شكل VLDL لتستعملها الأنسجة الأخرى. إلا أنه في مواجهة زيادة تدفق الأحماض الدهنية الحرة، يتوافر طريق بديل هو تكون الكيتون (Ketogenesis)، الذي يمكن الكبد من الاستمرار في إعادة نقل الكثير من تدفق الأحماض الدهنية الحرة في شكل يستعمل بسهولة وبسرعة من قبل الأنسجة غير الكبدية في كافة الحالات التغذوية.

لقد جرى توضيح معظم هذه المبادئ في (الشكل 29-2). ويجب أن نلاحظ وجود دورة للسكريات تتضمن تحرر الجليسرول من النسيج الشحمي وتحوله في الكبد إلى جلوكوز، ويلي ذلك إعادة نقله إلى النسيج الشحمي لإتمام الدورة. أما الدورة الأخرى فهي دورة الشحميات التي تتضمن تحرر الأحماض الدهنية الحرة من

النسيج الشحمي، ونقلها إلى الكبد وأسترتها فيه، ثم إعادة نقلها على شكل VLDL إلى النسيج الشحمي.

تنظم السبل الأيضية الرئيسية بإنزيمات أساسية تحفز تفاعلات اللاتوازن:

يبين (الجدول 29-1) ملخصاً عن المنظمات الرئيسية للسبل الأيضية الأساسية. وكما هو ملاحظ في الفصول السابقة، يتم التحكم بهذه السبل عند تفاعل أو اثنين من التفاعلات اللاتوازنية التي تجري عادة في بداية السبيل. إلا أنه غالباً ما يكون التلاؤم لزيادة استعمال سبيل ما (مثل تكون الشحم) لمدة طويلة من الزمن مترافقاً بازدياد عام في السعة الإنزيمية لكامل السبيل. ويكون هذا على الأرجح متناسقاً بوساطة آلية مشتركة لزيادة التعبير الجيني المتضمن ناتجا أيضياً استثنائياً كالجلوكوز 6– فسفات.

تتحدد النماذج الرئيسية للأيض في الأعضاء أو الأنسجة بوجود أو غياب الإنزيمات الأساسية:

يوجز (الجدول 29-2) الخصائص الأيضية الرئيسية الاستثنائية لبعض الأعضاء الرئيسية. وقد حددت هذه النماذج الأيضية عن طريق توزع الإنزيمات الأساسية بين الأعضاء والأنسجة، التي تعد العامل الرئيسي المؤثر في نمط الركائز المقبوطة والنواتج المتشكلة، ويحدد كل منها تدفق المستقلبات في الدم واتجاهها.

الجدول 1-29 : مُجمل المنظِّمات الرئيسية للسبل الأيضية.

السبيل	الإنزيمات المنظمة الرئيسية	المنشط	المثبّط	الهرمون المستفعل	ملاحظات
دورة حمض الستريك	سنتاز السيترات		ATP، أسيتيل CoAطويل السلسلة		يُنظَّم بشكل رئيسي وفقاً للحاجة إلى ATP، وبالتالي عن طريق توفير NAD^+
تحلل السكر	الفسفوفركتوكيناز	AMP، الفركتوز 2-6 ثنائي الفسفات في الكبد، الفركتوز 1-6 ثنائي الفسفات في العضلات	السيترات (أحماض دهنية، أجسام كيتونية)، cAMP ATP	الجلوكاجون	يُحرَّض بالأنسولين
أكسدة البيروفات	نازعة هيدروجين البيروفات	CoA، NAD، ADP، البيروفات	أسيتيل -CoA، NADH، ATP، (أحماض دهنية، أجسام كيتونية)	الإنسولين (في النسيج الشحمي)	مهمة أيضاً في تنظيم دورة حمض السيتريك
استحداث السكر	كَرْبوكسيلاز البيروفات	أسيتيل -CoA	ADP	الجلوكاجون؟	يُحرَّض بالقشرانيات السكرية والجلوكاجون وcAMP؛ وتُكظَم بالإنسولين
	كَرْبوكسي كيناز فسفوإينول البيروفات	cAMP?			
	فركتوز 1-6 الفسفاتاز الثنائية	cAMP	AMP، الفركتوز 2-6 ثنائي الفسفات في الكبد، الفركتوز 1-6 ثنائي الفسفات في العضلات	الجلوكاجون	

السبيل	الإنزيمات المنظمة الرئيسية	المنشط	المثبّط	الهرمون المستفعل	ملاحظات
تكوُّن الجليكوجين	سنتاز الجليكوجين		الفسفوريلاز (في الكبد)، cAMP، Ca^{+2} (في العضلات)	الإنسولين الجلوكاجون (الكبد) الإبينفرين	يُحرِّض بالإنسولين
تحلُّل الجليكوجين	الفسفوريلاز	cAMP Ca^{2+} (العضلات)		الإنسولين الجلوكاجون (الكبد) الإبينفرين	
سبيل البنتوز فسفات	نازعة هيدروجين جلوكوز –6– فسفات	NADP+	NADPH		يحرض بالإنسولين
تكون الشحم	كربوكسيلاز أسيتيل – CoA	السيترات	أسيتيل -CoA طويل السلسلة، cAMP	الإنسولين الجلوكاجون (الكبد)	يحرض بالإنسولين
تخليق الكوليسترول	مختزلة HMG-CoA		الكولسترول، cAMP، الميڤالونات، الأحماض الصفراوية	الإنسولين الجلوكاجون (الكبد)	يثبط ببعض الأدوية مثل اللوڤاستاتين

الجدول 2-29 : موجز الخصائص الرئيسة والاستثنائية للأيض في الأعضاء الرئيسية.

العضو	الوظيفة الرئيسية	السبل الرئيسية	الركائز الرئيسية	النواتج الرئيسية	الإنزيمات الخاصة
الكبد	خدمة الأنسجة والأعضاء الأخرى	معظمها موجود، منها استحداث السكر، الأكسدة البنائية، تكون الكيتون، تشكل البروتينات الشحمية واليوريا وحمض اليوريك والأحماض الصفراوية، تخليق الكوليسترول، تكون الشحميات*	أحماض دهنية حرة، جلوكوز (الإطعام الجيد)، لاكتات، جليسرول، فركتوز، أحماض أمينية (إيثانول)	جلوكوز، VLDL (ثلاثي أسيل الجليسرول) HDL، أجسام كيتونية، بولة، حمض اليوريك، أحماض صفراوية، بروتينات البلازما (أسيتات)	جلوكوكيناز، جلوكوز -6 – فسفاتاز، كيناز الجليسرول، كربوكسي كيناز الفسفوإينول بيروڤات، فركتوكياز، أرجيناز، HMG-CoA سنتازوليباز هيدروكسيلاز α7 (نازعة هيدروجين الكحول)
الدماغ	تناسق الجملة العصبية	تحلل السكر، أيض الأحماض الأمينية	جلوكوز، أحماض أمينية، أجسام كيتونية (في الجوع)، أحماض دهنية متعددة اللاإشباع عند الولدان.	لاكتات	
ضخ الدم		سبل هوائية كالأكسدة البنائية ودورة حمض السيتريك	الأحماض الدهنية الحرة، اللاكتات، الأجسام الكيتونية، ثلاثي أسيتيل جليسرول، الـ VLDL والدقائق الكيلوسية، بعض الجلوكوز		ليباز البروتين الشحمي السلسلة التنفسية متطورة جيداً
النسيج الشحمي	تخزين ثلاثي أسيتيل الجليسرول وتحطيمه	أسترة الأحماض الدهنية وتحلل الشحم وتكون الشحم*	الجلوكوز، ثلاثي أسيتيل جليسرول البروتين الشحمي	أحماض دهنية حرة، الجليسرول	ليباز البروتين الشحمي، الليباز الحساس للهرمون

(*) في العديد من الأنواع لكنه ليس نشيط جداً عند الإنسان.

العضو	الوظيفة الرئيسة	السبل الرئيسة	الركائز الرئيسة	النواتج الرئيسة	الإنزيمات الخاصة
العضلات ذات النفضة السريعة القلب	حركة سريعة	تحلل السكر	الجلوكوز	اللاكتات	
العضلات ذات النفضة البطيئة	حركة مستمرة	سبل حيوائية، مثل الأكسدة البنائية ودورة حمض السيتريك	الأجسام الكيتونية، ثلاثي أسيل جليسرول، VLDL والدقائق الكيلوسية، أحماض دهنية حرة		ليباز البروتين الشحمي، السلسلة التنفسية متطورة جيداً
الكلية	الإفراغ واستحداث السكر	استحداث السكر	أحماض دهنية حرة، اللاكتات، الجليسرول	الجلوكوز	كيناز الجليسرول، كربوكسي كيناز الفسفوإينول بيروڤات
الكريات الحمر	نقل O_2	تحلُّل السكر، سبيل البنتوز فسفات؛ لا يوجد متقدِّرات، لذلك لا توجد الأكسدة البنائية أو دورة حمض السيتريك	الجلوكوز	اللاكتات	(الهيموجلوبين)

المظاهر السريرية:

ينجم فرط كيتون الجسم المرضي عن تضخيم العوامل المسببة له في الجوع:

يكون فرط كيتون الجسم الذي يحدث في الجوع والإطعام الغني بالدهون معتدلاً نسبياً بالمقارنة مع الحالة الموجودة في الداء السكري غير المراقب وداء توأم الحمل عند النعاج (والانسمام الحملي عند النعاج)، أو فرط كيتون الجسم في فترة الإرضاع عند الماشية. ويبدو أن السبب الرئيسي هو أنه في الحالات الوخيمة تكون حتى السكريات أقل توافراً للأنسجة مما في الحالات المعتدلة. وبذلك ففي الأشكال الأكثر اعتدالاً من الداء السكري والإطعام الغني بالدهون وفي الجوع المزمن، يوجد الجليكوجين في الكبد بكميات متباينة، وتكون مستويات الأحماض الدهنية الحرة أخفض، ويمكن أن يكون هذا مسؤولاً عن فرط أقل وخامة في كيتون الجسم مترافقاً مع هذه الحالات.

وعلى الأرجح يؤثر عوز (أو العوز النسبي) الإنسولين في الداء السكري من النمط الأول في النسيج الشحمي أكثر من أي نسيج آخر بسبب حساسيته المفرطة تجاه هذا الهرمون. ونتيجة لذلك، فإنه تتحرر الأحماض الدهنية الحرة بكميات تسبب ارتفاع مستويات الأحماض الدهنية الحرة في البلازما أكبر بمرتين مما هي عند الأفراد الأسوياء الصائمين، مع وجود تراكيز أعلى موافقة من الأجسام الكيتونية. وتحدث تبدلات عديدة أيضاً في فعالية الإنزيمات في الكبد، وتعزز هذه التبدلات كلاً من معدل استحداث السكر ومعدل نقل الجلوكوز إلى الدم على الرغم من المستويات المرتفعة من الجلوكوز في الدم.

يوجد، في حالة فرط كيتون الجسم عند المجترات، استنزاف شديد للجلوكوز من الدم بسبب الاحتياجات الجنينية الزائدة للتوائم، أو متطلبات الإرضاع المسرف (الشكل 29-2). فينتج نقص شديد في سكر الدم مع وجود كميات ضئيلة جداً من الجليكوجين في الكبد. ويميل فرط كيتون الجسم في هذه الحالات إلى أن يكون وخيماً. فعندما ينشأ نقص سكر الدم، يتناقص إفراز الإنسولين، مما يسمح ليس فقط باستعمال أقل للجلوكوز، بل ويعزز أيضاً تحلل الشحم في النسيج الشحمي. وغالباً ما تبدي النساء الحوامل فرطاً خفيفاً للكيتون في الجسم.

في الداء السكري من النمط الأول غير المعالج، يحدث الموت نتيجة مضاعفات الحماض الناجمة عن النفاد طويل الأمد للأساس المطلوب لتعديل أحماض الأجسام الكيتونية المفرغة في البول (الفصل 65، الحالة رقم 9: الداء السكري من النمط الأول مع حماض كيتوني) ويحدث السبات والموت في الانسمام الحملي عند النعاج بشكل سريع بسبب نقص سكر الدم الوخيم.

الخلاصة:

1 – يكون العديد من المواد الغذائية الرئيسية قابلاً للتحولات البينية. حيث تتحول السكريات إلى أحماض دهنية عن طريق تفاعل نازعة هيدروجين البيروڤات، ولأن هذا التفاعل غير عكوس بالضرورة، فإنه لا يمكن أن تجري العملية العكسية. ولا يمكن أن يوجد تحول صاف للأسيتيل CoA (أو المواد المشكلة لأسيتيل CoA) إلى جلوكوز عن طريق دورة حمض السيتريك، لأنه تستهلك جزيئاً واحداً من الأكسالوأسيتات مقابل كل جزيء من الأكسالوأستات يتحول إلى جلوكوز.

2 – يمكن إنتاج العديد من الهياكل الكربونية للأحماض الأمينية غير الأساسية من السكريات عن طريق دورة حمض السيتريك ونقل الأمين. ويسمح عكس هذه العملية للأحماض الأمينية المولدة للسكر بالدخول إلى سبيل استحداث السكر.

3 – تتأكسد الأحماض الدهنية الحرة والأجسام الكيتونية خلال الجوع أفضل من الجلوكوز الذي يوفر لتلك الأنسجة، كالدماغ الذي يحتاج للجلوكوز في كل الأوقات. ويتحقق هذا عن طريق تثبيط الفسفوفركتوكيناز ونازعة هيدروجين البيروڤات. ويطلق على هذا التأثير، المقترن مع تثبيط تحريك الأحماض الدهنية الحرة في النسيج الشحمي، بتأثير الجلوكوز الموفر، دورة الجلوكوز. الحمض الدهني.

4 – فرط كيتون الجسم هو تلاؤم أيضي تجاه الجوع ويكون متفاقماً في الحالات المرضية مثل الداء السكري وفرط كيتون الجسم عند المجترات.

***References:**

Brooks GA, Mercier J: Balance of carbohydrate and lipid utilization during exercise: The "crossover" concept. *J Appl Physiol* 1994,76:2253.

Caprio S et al: Oxidative fuel metabolism during mild hypoglycemia: Critical role of free fatty acids. *Am J Physiol* 1989,256:E413.

Cohen P: *Control of Enzyme Activity*, 2nd ed. Chapman & Hall, 1983.

Foufelle F, Girard J, Ferre P: Regulation of lipogenic enzyme expression by glucose in liver and adipose tissue: Is glucose 6-phosphate the signalling metabolite? *Biochem Soc Trans* 1996;24:372.

Knopp RH et al: Lipoprotein metabolism in pregnancy, fat transport to the fetus and the effects of diabetes. *Biol Neonate* 1986,50:297.

McNamara JP: Role and regulation of metabolism in adipose tissue during lactation. *J Nutr Biochem* 1995;6: 120.

Randle PJ: The glucose-fatty acid cycle-biochemical aspects. *Atherosclerosis Rev* 1991 ;22: 183.

Zorzano A et al: Effects of starvation and exercise on concentrations of citrate, hexose phosphates and glycogen in skeletal muscle and heart: Evidence for selective operation of the glucose-fatty acid cycle. *Biochem J* 1985;232:585.

الباب الثالث

أيض البروتينات والأحماض الأمينية

Metabolism of Proteins & Amino Acids

الفصل الثلاثون

التخليق الحيوي للأحماض الأمينية غير الأساسية تغذوياً

Biosynthesis of the Nutritionally Nonessential Amino Acids

مقدمة:

من الخطأ الإشارة إلى الأحماض الأمينية الأساسية تغذوياً «كأساسية أو لا غنى عنها» والأحماض الأمينية غير الأساسية تغذوياً «كغير أساسية أو يستغنى عنها» (الجدول 30-1). في حين تكون هذه المصطلحات ملائمة في سياق الحديث عن التغذية، وهي تحجب الطبيعة الأساسية بيولوجياً لكافة الأحماض الأمينية العشرين. ويمكن إثبات أن الأحماض الأمينية غير الأساسية تغذوياً مهمة أكثر للخلية من تلك الأساسية تغذوياً، لأن الكائنات الحية (مثل الإنسان) قد تطورت على الافتقار للقدرة على تصنيع الأخيرة، وليس المجموعة السابقة.

ونظراً لأن هذا الكتاب يركز على العمليات الأيضية في الأنسجة البشرية، فإننا سنناقش، فقط التخليق، الحيوي للأحماض الأمينية غير الأساسية تغذوياً، أما التخليق الحيوي للأحماض الأمينية الأساسية تغذوياً في النباتات والأحياء المجهرية فهو غير مغطى في هذا الفصل.

الأساسية تغذوياً	غير الأساسية تغذوياً
أرجينين (1)	ألانين
هيستيدين (1)	أسبارجين
إيزولوسين	أسبارتات
لوسين	سيستين
ليسين	جلوتامات
ميثيونين	جلوتامين
فينيل ألانين	جليسين
ثريونين	هيدروكسي البرولين (2)
تربتوفان	هيدروكسي الليسين (2)
ڤالين	برولين
	سيرين
	تيروزين

الجدول 30-1 : احتياجات الإنسان من الأحماض الأمينية.

1– «شبه أساسي تغذوياً»، ويتم تخليقه بمعدلات غير كافية لدعم نمو الأطفال.

2– ليس ضرورياً لتخليق البروتين، لكنه يتشكل خلال معالجة الكولاجين بعد الترجمة.

الأهمية الطبية البيولوجية:

ترتبط المضامين الطبية للمادة في هذا الفصل بحالات عوز الأحماض الأمينية، التي يمكن أن تحدث نتيجة حذف أو نقص أي حمض من الأحماض الأمينية الأساسية تغذوياً من الغذاء. ونظراً لأن بعض الحبوب تعد مصادر فقيرة نسبياً للتربتوفان والليسين، فإنه في المناطق التي يعتمد الغذاء فيها بشكل رئيسي على هذه الحبوب للحصول على البروتين الكامل ولا يكون هذا الغذاء مزوداً بمصادر بروتينية أخرى مثل الحليب أو السمك أو اللحم، فإنه قد تلاحظ حالات عوز مثيرة. لهذا يعد كل من الكواشركور(Kwashiorkor) والسغل (Marasmus) أمراضاً مستوطنة في مناطق معينة من غرب إفريقيا. ويحدث الكواشركور عندما يفطم الطفل على غذاء نشوي فقير بالبروتين. أما في السغل فيكون هناك عوز في كل من المدخول الحراري وكذلك وأحماض أمينية نوعية.

يكون للأحماض الأمينية الأساسية تغذوياً سبل تخليق حيوي طويلة:

يقترح وجود الاحتياجات التغذوية الاعتماد على الإمداد الخارجي من الوسائط اللازمة يمكن أن يكون له قيمة من أجل البقاء (في الحياة) أكبر من القدرة على تخليقه حيوياً. فعند وجود متوسط نوعي في الطعام، فإن الكائن الحي الذي يستطيع تخليقه يكون منتجاً وناقلاً للأجيال القادمة لمعلومات وراثية ذات قيمة سلبية من أجل البقاء. وتكون قيمة البقاء سلبية وليست معدومة، لأن الـ ATP والمواد الغذائية يستخدمان لتخليق دنا (DNA) غير ضروري. ويكون عدد الإنزيمات اللازمة للخلايا طليعيات النوى لتخليق الأحماض الأمينية الأساسية تغذوياً كبيراً بالنسبة لعدد الإنزيمات اللازمة لتخليق الأحماض الأمينية غير الأساسية تغذوياً (الجدول 30-2). وهذا يفترض وجود فائدة بالاستمرار في الاحتفاظ بالقدرة على صنع أحماض أمينية «سهلة»، في حين تضيع القدرة على صنع أحماض أمينية «صعبة».

عدد الإنزيمات اللازمة للتخليق			
الأساسية تغذوياً		**غير الأساسية تغذوياً**	
[1]Arg	7	Ala	1
His	6	Asp	1
Thr	6	Asn[1]	1
Met	5 (4 مشتركة)	Glu	1
Lys	8 (6 مشتركة)	Gln[1]	1
lle	8 (7 مشتركة)	Hyl[3]	1
Val	1 (7 مشتركة)	Hyp[1]	1
Leu	3	Pro[1]	3
Phe	10	Ser	3
Trp	5 (8 مشتركة)	Gly[5]	1
	59	Gys[6]	2
		Tyr[7]	1
			17

الجدول 30-2 : الإنزيمات اللازمة لتخليق الأحماض الأمينية من متوسطات متقالبة.

1 ـ من Glu، 2 ـ من Asp، 3 ـ من Lys، 4 ـ من Pro، 5 ـ من Ser، 6 ـ من Ser زائد S^{2-}، 7 ـ من phe

للأحماض الأمينية غير الأساسية تغذوياً سبل تخليق حيوي قصيرة:

من بين الأحماض الأمينية الإثني عشر غير الأساسية تغذوياً (الجدول 30-1)، تتشكل تسعة منها من متوسطات متقالبة (Amphibolic). وتتشكل الأحماض الأمينية الثلاث الباقية (السيستيين والتيروزين وهيدروكسي البرولين) من الأحماض الأمينية الأساسية تغذوياً.

وتحتل كل من نازعة هيدروجين الجلوتامات وسنتيتاز الجلوتامين وناقلات الأمين مواقع أساسية في التخليق الحيوي للأحماض الأمينية. ويكون تأثيرها المشترك هو

تحـفـيـز تحـول أيون الأمـونيـوم غـيـر العـضـوي إلـى النتـروجين (الآزوت) α– أمـينو العضوي للعديد من الأحماض الأمينية.

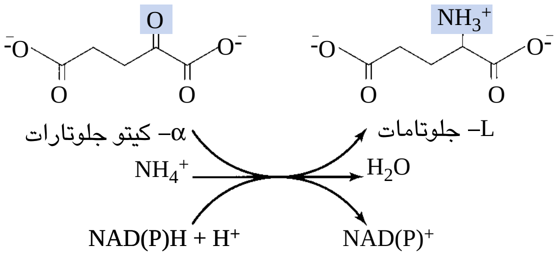
1 – الجلوتامـات: يحـفـز ضم الأمـين الإرجـاعـي الـ α– كـيـتـو جلوتـارات بنازعـة هيـدروجين الجلوتـامـات (الشكل 30-1). وبالإضـافـة إلى تشكيل L – جلوتامـات من المتوسط المتقالب α–كيتـوجلوتارات، يشكل هذا التـفـاعل خطوة أولى أسـاسـيـة في التخليق الحيوي للعديد من الأحماض الأمينية الإضافية.

2 – الجلوتامين: يحــفــز التــخـليق الحــيــوي للجلوتامـين من الجلـوتامــات بسـنتــاز الجلوتامين (الشكل 30-2). ويبدي التفاعل نقاطاً متماثلة ومختلفة على حد سواء عن تفاعل نازعة هيدروجـين الجلوتامات. فكلاهمـا «يثبت» ذرة نتروجين واحدة لاعضوية في رابطة أمينية والأخرى في الرابطة الأميـدية. كمـا أن كلا التفـاعلين مقـترنان مع تفاعـلات مطلقة كثيراً للطاقة، فالتفاعل في حالة نازعة هيدروجين الجلوتامات هو أكسدة الـ NAD(P)H؛ ومن أجل سنتاز الجلوتامين هو حلمهة الـ ATP.

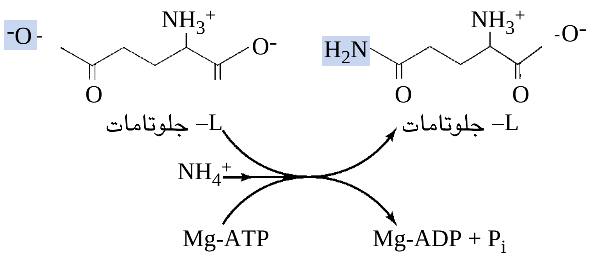
3 – الألانين والأســـبــارتات: يؤدي نقلُ أمـين البـيــروفـــات إلى تشكيل L – ألانين (الشكل 30-3)، ونقل أمين الأكسـالوأسيتات إلى تشكيل L– أسبـارتات. ويوضح نقلُ الزمـرة الأمـينيـة α– من الجلوتامـات إلـى المتـوسطين المتـقـالبين، البـيـروفـات والأكسـالوأسـيـتـات، قـدرة نـاقلة الأمـين على إيصـال أيون الأمـونيـوم عن طريق الجلوتامات إلى نتروجين الزمرة الأمينية α– في الأحماض الأمينية.

4 – الأسـبـارجين: إن تشكيل الأسـبـارجـين من الأسـبـارتات، بتـحـفـيـز سنتـاز الأسـبــارجين (الشكل 30-4) يماثل تخليق الجلوتـامين (الشكل 30-2). ولكن، ولأن الإنزيم عند الثـدييـات يسـتـخـدم الجلوتامين بدلاً من أيون الأمـونيـوم كـمـصـدر للنتروجين، فإن سنتاز الأسبارجين لدى الثدييات لا يثبت النتروجين اللاعضوي. وبالمقابل، تستخدم إنزيمات سنتاز الأسبارجين في الجراثيم أيون الأمونيوم، ولذلك فـهي تثبت النتـروجين. وكمـا هو بالنسبـة للتـفـاعـلات الأخـرى التي تتـشكل فـيـهـا البيروفسفات (PPi)، فإن الحلمهة المقترنة لـ PPi لتشكل Pi بوساطة البيروفسفاتاز تضمن بأن يكون التفاعل هو المفضل بقوة من الناحية الطاقية.

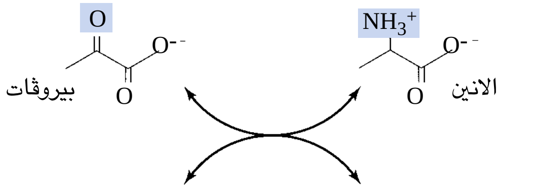
5 – السيرين: يتشكل السيرين من متوسط سبيل تحلل السكر D-3-فسفوجليسرات (الشكل 30-5). حيث تتأكسد زمرة الهيدروكسيل α إلى زمرة أكسو بوساطة NDA^+، ثم ينقل إليها الأمين فيتشكل الفسفوسيرين، الذي ينزع الفسفور منه بعد ذلك فيتشكل السيرين.



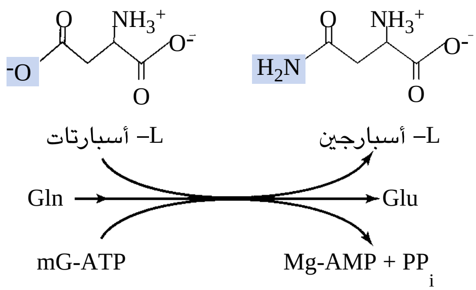
الشكل 30-1 : تفاعل نازعة هيدروجين الجلوتامات. يتواصل ضم الأمين الإرجاعي لـ α–كيتو جلوتارات بوساطة NH_4^+ على حساب NAD(P)H.



الشكل 30-2 : تفاعل سنتاز الجلوتامين.

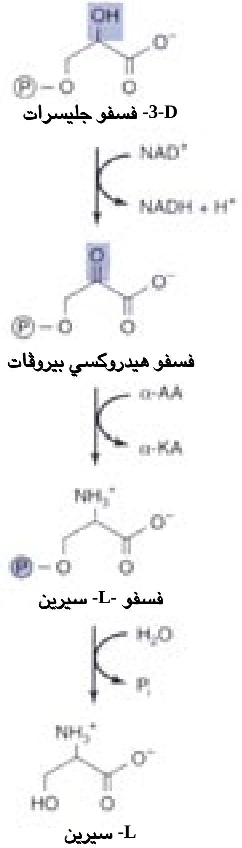


الشكل 30-3 : تشكيل الألانين بتفاعل نقل أمين البيروفات. قد يكون المانح الأميني هو الجلوتامات أو الأسبارتات. لذلك يكون الناتج الآخر إما ـ α –كيتو جلوتارات أو أكسالوأسيتات. وإذا كانت الأكسالوأسيتات هي الحمض أوكسو عوضاً عن البيروفات، فإن قبول زمرة أمينية من الجلوتامات يشكل الأسبارتات.



الشكل 30-4 : تفاعل سنتاز الأسبارجين. لاحظ أوجه التشابه والاختلاف مع تفاعل سنتاز الجلوتامين (الشكل30-2).

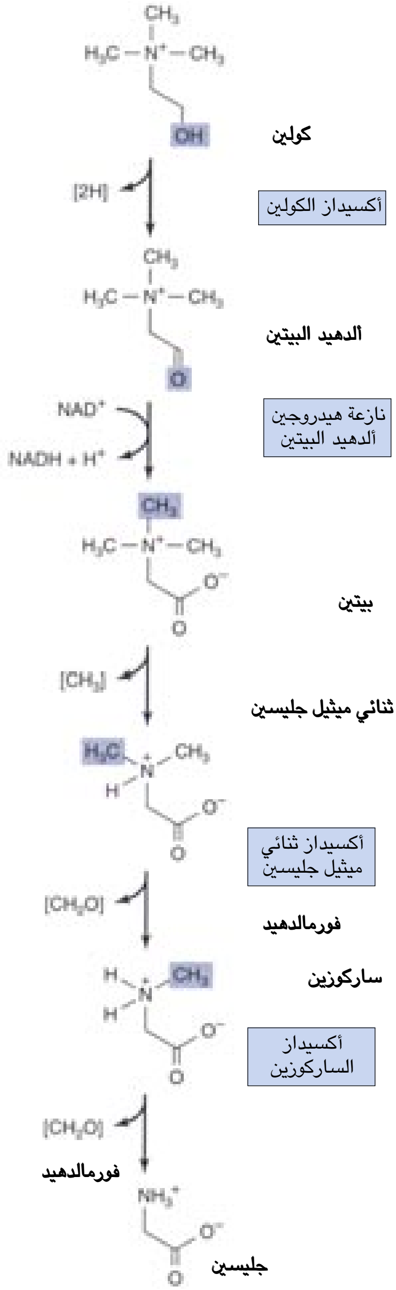
6 – الجليسين: يمكن أن يجري تخليق الجليسين في نسيج الثدييات بعدة طرق، فالعصارة الخلوية الكبدية تحوي ناقلات أمين الجليسين التي تحفز تخليق الجليسين من الجليوكسيلات (Glyoxylate) والجلوتامات أو الألانين. وخلافاً لمعظم تفاعلات نقل الأمين، يفضل هذا الطريق تخليق الجليسين بشدة. وهناك طريقان آخران مهمان لتشكيل الجليسين عند الثدييات، هما من الكولين (الشكل 30-6) ومن السيرين، عن طريق تفاعل ناقلة هيدروكسي ميثيل السيرين (الشكل 30-7).



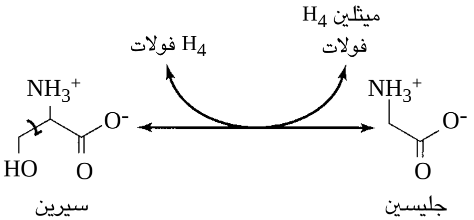
الشكل 30-5 : التخليق الحيوي للسيرين (α–AA: أحماض α–أمينية؛ α–KA:أحماض α– كيتونية).

7 – **البرولين**: يتشكل البرولين لدى الثدييات، وبعض الأشكال الحية الأخرى من الجلوتامات عن طريق عكس تفاعلات تقويض البرولين (الشكل 30-8).

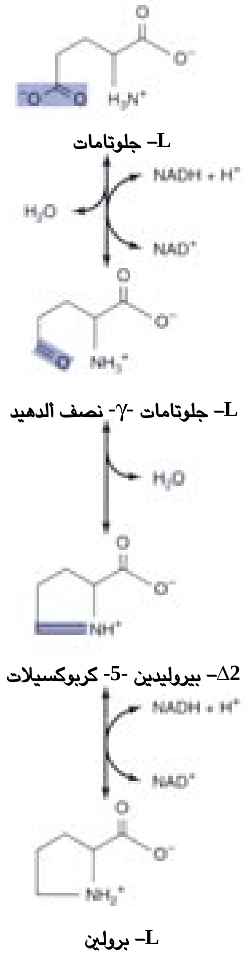
8– **السيستيين**: يتشكل السيستيين، مع أنه بحد ذاته غير أساسي تغذوياً، من الميثيونين (الأساسي تغذوياً) والسيرين (غير الأساسي تغذوياً). حيث يتحول الميثيونين أولاً إلى الهوموسيستيين عن طريق S– أدينوزيل الميثيونين و S– أدينوزيل الهوموسيستيين (الفصل 32). ويبين (الشكل 30-9) تحول الهوموسيستيين والسيرين إلى السيستيين والهوموسيرين.



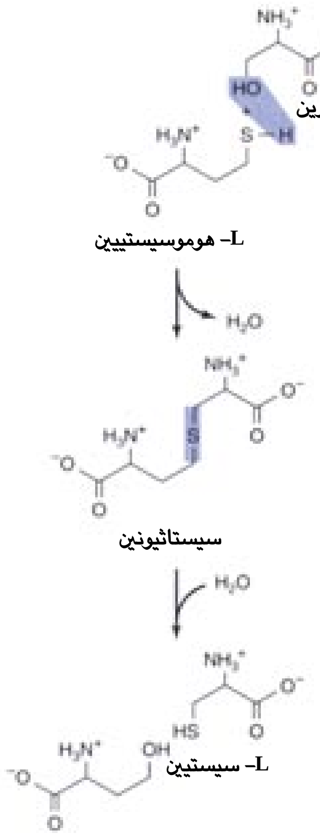
الشكل 30-6 : تشكيل الجليسين من الكولين.



الشكل 30-7 : تفاعل ناقلة هيدروكسي السيرين. هذا التفاعل عكوس تماماً. (H_2 فولات: رباعي هيدروفولات).



الشكل 30-8 : التخليق الحيوي للبرولين من الجلوتامات عن طريق عكس تفاعلات تقويض البرولين.

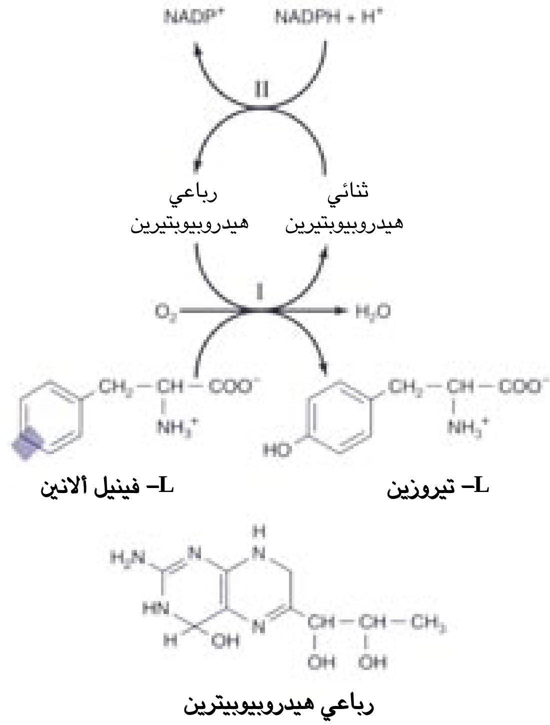


الشكل 30-9 : تحول الهوموسيستيين والسيرين إلى هوموسيرين وسيستيين. لاحظ أنه في حين يكون كبريت السيستيين مشتقاً من الميثيونين عن طريق نقل الكبريت، فإن الهيكل الكربوني يأتي من السيرين.

9 – **التيروزين**: يتشكل التيروزين من الفينيل ألانين بتفاعل يحفزه هيدروكسيلاز الفينيل ألانين (الشكل 30-10). وبهذا الشكل، حيث أن الفينيل ألانين حمض أميني أساسي تغذوياً فإنه ليس من الشرط أن يتوافر التيروزين في غذاء يحوي كميات كافية من الفينيل ألانين. ويكون التفاعل غير عكسي، وبذلك لا يمكن للتيروزين أن يلبي الحاجة التغذوية من الفينيل ألانين. ويعد مركب هيدروكسيلاز الفينيل ألانين من إنزيمات الأكسيجيناز مختلطة الوظيفة ويوجد في كبد الثدييات، لكنه يغيب من الأنسجة الأخرى. ويتضمن التفاعل انجبال ذرة واحدة من الأكسجين الجزيئي في

الموضع para من الفينيل ألانين، في حين يتم إرجاع الذرة الأخرى ليتشكل الماء (الشكل 30-11). وتتأمن طاقةُ الإرجاع، التي يوفرها الـ NADPH بشكل أساسي على الفور بشكل رباعي هيدروالبيوبتيرين، وهو بتيريدين يماثل حمض الفوليك.

10 – هيدروكسي البرولين: نظراً لأن البرولين يعمل كطليعة لهيدروكسي البرولين، فإن كلاً من البرولين وهيدروكسي البرولين ينتميان إلى فصيلة الجلوتامات من الأحماض الأمينية. ومع أن كلاً من 3– و4 – هيدروكسي البرولين يوجدان في أنسجة الثدييات، فإن ما يتبعهما يعزى إلى 4– هيدروكسي البرولين المفروق فحسب.



الشكل 30-10 : تفاعل هيدروكسيلاز الفينيل ألانين. يشترك فيه فعاليتان إنزيميتان مستقلتان. حيث تحفز الفعالية II إرجاع ثنائي هيدروبيوبيترين بالـ NADPH، وتحفز الفعالية I إرجاع O_2 إلى H_2O، والفينيل ألانين إلى التيروزين. يرتبط هذا التفاعل بالعديد من العيوب في أيض الفينيل ألانين والتي جرت مناقشتها في الفصل 32.

يوجد هيدروكسي البرولين، على غرار هيدروكسي الليسين، بشكل أساسي في الكولاجين وهو البروتين الأكثر وفرة في أنسجة الثدييات. ويكون نحو ثلث الكولاجين من الجليسين وثلث آخر من البرولين وهيدروكسي البرولين. ويقوم هيدروكسي البرولين، المسؤول عن العديد من ثمالات الأحماض الأمينية بالكولاجين، بترسيخ (حماية) الحلزون الثلاثي الكولاجيني من الهضم بإنزيمات البروتياز. وعلى النقيض من زمر الهيدروكسيل في هيدروكسي الليسين، التي تعمل كمقرات لارتباط ثمالات الجالاكتوزيل والجلوكوزيل، فإنه لا تستبدل زمر الهيدروكسيل في هيدروكسي برولين الكولاجين.

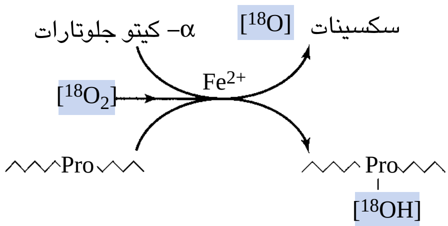
إن الميزة غير العادية في أيض هيدروكسي البرولين وهيدروكسي الليسين هي في أن الأحماض الأمينية المتشكلة سابقاً التابعة لبروتين الطعام المتناول لا تنجبل في الكولاجين. ولا يوجد tRNA قادر على قبول هيدروكسي البرولينوهيدروكسي الليسين. وغرزهما في السلسلة متعددة الببتيد الممتدة. إلا أن البرولين الغذائي هو طليعة لهيدروكسي برولين الكولاجين، والليسين الغذائي هو طليعة لهيدروكسي ليسين الكولاجين. وتحفز هدرلة البرولين أو الليسين المرتبط بالببتيد بهيدروكسيلاز البروليل (الشكل 30-11)، أو بهيدروكسيلاز الليسيل، وهي إنزيمات مرتبطة في الجزء الصغروري (في الجسيمات الصغرية) للعديد من الأنسجة (الجلد والكبد والرئة والقلب والعضلات الهيكلية والجروح الجيبية). وهذه الإنزيمات هي إنزيمات هيدروكسيلاز الببتيديل، لأن الهدرلة تجري فقط نتيجة انجبال البرولين أو الليسين ضمن الارتباط متعدد الببتيد.

ويعد إنزيما الهيدروكسيلاز هذان من إنزيمات الأكسيجيناز مختلطة الوظيفة التي تحتاج، بالإضافة للركيزة، لكل من الأكسجين الجزيئي والأسكوربات و Fe^{2+} و α– كيتوجلوتارات. وقد دُرس هيدروكسيلاز البروليل بشكل مكثف جداً، أما هيدروكسيلاز الليسيل فيبدو أنه إنزيم مضاهئ تماماً. ومقابل كل جزيء من البرولين المهدرل يجري نزع كربوكسيل جزيء واحد من α– كيتوجلوتارات ليتحول إلى سُكسينات؛ وتنجبل خلال هذه العملية ذرة واحدة من الأكسجين الجزيئي مع البرولين وواحدة أخرى مع السكسينات (الشكل 30-11).

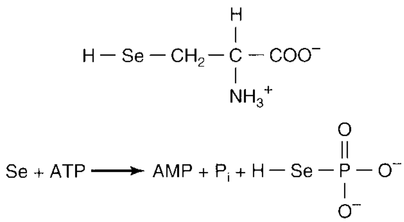
11 – هيدروكسي الليسين: يوجد 5 – هيدروكسي الليسين α – ε– ثنائي أمينو –γ– هيدروكسي كابروات) في الكولاجين، لكنه يغيب من معظم البروتينات الأخرى عند الثدييات. وينشأ هيدروكسي ليسين الكولاجين بشكل مباشر من ليسين الغذاء، وليس من هيدروكسي ليسين الغذاء. وقبل هدرلة الليسين يجب أولاً أن ينجبل برابطة ببتيدية. ثم تحفز هدرلة ببتيد الليسيل بهيدروكسيلاز الليسيل، وهي أكسيداز مختلطة الوظيفة، مماثلة لهيدروكسيلاز البروليل (الشكل 30-11).

12 – السيلينوسيستيين (Selenocysteine): يوجد الحمض الأميني السيلينو سيستيين عند المقر الفعّال لعدد من الإنزيمات عند حقيقيات وطليعيات النوى. وتشمل الأمثلة من الأنسجة عند الإنسان كلاً من مختزلة التيوريدوكسين (Thioredoxin)، وبيروكسيداز الجلوتاثيون الذي يلتقط البيروكسيدات، ونازعات اليود التي تحول الثيروكسين إلى ثلاثي يود التريونين.

وخلافاً لهيدروكسي البرولين والأحماض الأمينية الأخرى المتشكلة عن طريق تعديل الأحماض الأمينية الببتيديلية بعد الترجمة، ينشأ السيلينو سيستيين بعملية تستهل اندماجه بالببتيدات. وتتوازى هذه العملية مع عملية انجبال الأحماض الأمينية المشتركة. ويتضمن الانجبال الترجمي المشارك للسيلينوسيستيين وجود tRNA متميز هو $tRNA^{Sec}$، الذي له مضاد رامزة هي UCA تشير في الحالة السوية إلى التوقف «قف». وتتضمن قابلية جهاز تصنيع البروتين عند تمييز الرامزة UGA النوعية للسيلينوسيستيين عن تلك التي تشير لـ «قف»، تتضمن عنصراً لغرز السيلينوسيستيين له بنية عروة جذعية، ويوجد في المنطقة 3´ غير المترجمة من mRNA ويتضمن التخليق الحيوي لسيلينو سيستيين كلاً من $tRNA^{Sec}$ المشحون وأسيلة أمينية بـ L– سيرين وهو تفاعل يحفز بالليجاز (Ligase) الذي يشحن $tRNA^{Ser}$. ويشتمل الاستبدال التالي لأكسجين السيرين بالسيلينيوم على السيلينوفسفات المتشكلة في تفاعل يتطلب الـ ATP ويحفزه سنتاز السيلينوفسفات (الشكل 30-12).



الشكل 30-11 : تفاعل هيدروكسيللاز البروليل. إن الركيزة هي ببتيد غني بالبرولين. وفي أثناء سير التفاعل، ينجبل الأكسجين الجزيئى في كل من السكسينات والبرولين (أظهرت في الشكل باستخدام الأكسجين الثقيل $O_2{}^{18}$). ويحفز هيدروكسيلاز الليسيل تفاعلا مماثلاً.



الشكل 30-12 : السيلينوسيستيين (في الأعلى) والتفاعل الذي يحفزه سنتاز السيلينوفسفات (بالأسفل).

تستطيع الأحماض الكيتونية لكل من الفالين واللوسين والإيزولوسين أن تحل مكان الأحماض الأمينية في الغذاء:

على الرغم من أن اللوسين والفالين والإيزولوسين جميعها أحماض أمينية أساسية تغذوياً للإنسان ولحيوانات راقية أخرى فإن ناقلات الأمين في أنسجة الثدييات تقوم بتحويل بيني عكوس لكل هذه الأحماض الأمينية الثلاث ولأحماضها α– كيتو الموافقة. وبذلك يمكن أن تحل الأحماض α– كيتو مكان أحماضها الأمينية في الغذاء.

الهيستيدين والأرجينين أحماض نصف أساسية تغذوياً:

تستطيع الجرذان تخليق الأرجينين، وهو حمض أميني أساسي تغذوياً للإنسان في طور النمو، لكن بكميات غير كافية للسماح بالنمو السوي. إن الهيستيدين، على غرار الأرجينين، نصف أساسي تغذوياً. ويحافظ الأفراد البالغون والجرذان البالغة على التوازن النتروجيني لفترات قصيرة في غياب الهيستيدين. ومع ذلك فالحيوان في طور النمو يحتاج للهيستيدين في الغذاء. وإذا تطلب إنجاز الدراسات البحثية فترات طويلة من الزمن، فمن المرجح أن تكون الحاجة للهيستيدين واضحة عند الأفراد البالغين.

الخلاصة:

تستطيع كافة الفقاريات، ومنها الإنسان، أن تشكل 12 حمضاً أمينياً أساسياً من الناحية التغذوية من المتوسطات المتقالبة أو من أحماض أمينية غذائية أخرى. إلا أن الفقاريات لا تستطيع أن تقوم بالتخليق الحيوي لعشرة أحماض أمينية أساسية تغذوياً. وقد وجهنا الاهتمام في هذا الفصل للمجموعة غير الأساسية تغذوياً فقط. وتقوم الفقاريات بالتخليق الحيوي للأحماض الأمينية من المتوسطات المتقالبة عن طريق سبل أيضية تضم 5 أو أقل من التفاعلات المحفَّزة بالإنزيمات. إن

المتوسطات المتقالبة الأصلية والأحماض الأمينية التي تنشأ منها هي متوسطات دورة حمض السيتريك، أي α-كيتوجلوتارات (الجلوتامات والجلوتامين والبرولين وهيدروكسي البرولين) والأكسالوأسيتات (الأسبارتات والأسبارجين)؛ ومتوسط سبيل تحلل السكر و3- فسفوجليسرات (السيرين والجليسين). وتتشكل ثلاثة أحماض أمينية أخرى (السيستيين والتيروزين وهيدروكسي الليسين) من أحماض أمينية أساسية تغذوياً.

ويؤمن السيرين الهيكل الكربوني، والهوموسيستيين الكبريت للتخليق الحيوي للسيستيين، في حين يقوم هيدروكسيلاز الفينيل ألانين بتحويل الفينيل ألانين، إلى التيروزين. ونظراً لأنه لا توجد رامزة أو tRNA يملي انغراز هيدروكسي البرولين أو هيدروكسي الليسين في الببتيدات، فإن كلاً من هيدروكسي البرولين الغذائي وهيدروكسي الليسين الغذائي لا يتجبلان في البروتينات. وتنشأ هذه الأحماض الأمينية المهدرلة عن الهدرلة بعد الترجمة بوساطة إنزيمات الأكسيداز مختلطة الوظيفة لببتيديل البرولين أو الليسين. وبالمقابل، ينشأ السيلينوسيستيين، وهو ثمالة المقر الفعال الأساسية في عدة إنزيمات عند الثدييات، عن طريق الانغراز الترجمي المشارك لـ tRNA الذى تم تعديله مسبقاً.

*** References:**

Combs GF, Gray WP: Chemopreventive agents-selenium. *Pharmacol Ther* 1998;79:179.

Mercer LP, Dodds SJ, Smith Dl: Dispensable, indispensable, and conditionally indispensable amino acid ratios in the diet. In: *Absorption and Utilization of Amino Acids.* Friedman M (editor). CRC Press, 1989.

Nordberg J et al: Mammalian thioredoxin reductase is irreversibly inhibited by dinitrohalobenzenes by alkylation of both the redox active selenocysteine and its neighbroing cysteine residue. *J Biol Chem* 1998;273:10835

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 7th ed. McGraw-Hill,1995.

St Germain DL, Galton VA: The deiodinase family of selenoproteins. *Thyroid* 1997;7:655.

الفصل الحادي والثلاثون

تقويض البروتينات ونتروجين الأحماض الأمينية

Catabolism of Proteins and of Amino Acid Nitrogen

مقدمة:

وجهنا اهتمامنا في هذا الفصل إلى كيف يتم نزع النتروجين من الأحماض الأمينية وتحويله إلى يوريا (Urea)، والمشكلات الطبية التي تظهر عندما توجد عيوب في هذه العمليات.

الأهمية الطبية البيولوجية:

يشير التوازن النتروجيني إلى الاختلاف بين المدخول (Intake) الإجمالي من النتروجين والخسارة (Loss) الإجمالية من النتروجين في البراز والبول والعرق. ويلاحظ التوازن النتروجيني الإيجابي، أي تناول نتروجين أكثر من المفرغ منه، عند كل من الأطفال في طور النمو والنساء الحوامل. أما الأفراد البالغون الأسوياء فيكونون عادة في توازن نتروجيني أي أن المدخول النتروجيني يساوي النتاج. وقد يحدث التوازن النتروجيني السلبي، أي عندما يتجاوز نتاج النتروجين المدخول منه، وذلك بعد الجراحة وفي السرطان المتقدم وبعد الإخفاق في تناول كميات كافية أو مناسبة من البروتين عالي الجودة (كما في الكواشركور والسغل).

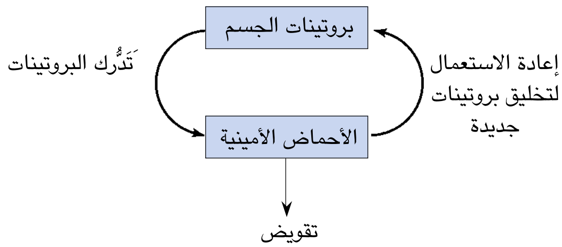
إن الأمونيا (Ammonia)، التي تشتق بشكل رئيسي من نزع أمين النتروجين α–من للأحماض الأمينية، سامة لجميع الحيوانات. لذلك تقوم الأنسجة عند الإنسان في البداية بإزالة سمية الأمونيا عن طريق تحويلها إلى جلوتامين لينقل إلى الكبد. ويؤدي نزع الأمين من الجلوتامين في الكبد إلى تحرير الأمونيا، التي تتحول بعد ذلك بفعالية إلى مركب غير سام غني بالنتروجين هو اليوريا. ويعد التخليق الحيوي الفعّال لليوريا أساسياً للصحة. فعندما تكون الوظيفة الكبدية معرضة فعلياً للخطر، كما عند الأفراد المصابين بتليف جسيم أو بالتهاب وخيم فى الكبد، تتراكم الأمونيا في الدم وتولد علامات وأعراضاً سريرية. وقد أشارت التقارير إلى وجود اضطرابات أيضية نادرة، لكنها مؤذية، في جميع إنزيمات دورة اليوريا الخمسة. ويتطلب التدبير الملائم لأولئك الأطفال القلة الذين يولدون وهم مصابون بعوز في فعالية إنزيم ما في دورة اليوريا، فهماً للكيمياء الحيوية لتخليق اليوريا. وتقدم الخطوات المستقبلية في مجال المعالجة الجينية (Ggene Therapy) وعوداً بمعالجة هذه الأمراض الأيضية.

يحدث تقلّب البروتينات في كافة أشكال الحياة:

يعد تقلب البروتينات، أي تدرك وإعادة تخليق كافة البروتينات الخلوية بشكل مستمر، عملية فيزيولوجية أساسية في جميع أشكال الحياة. وحيث أن التقلب يشمل كلاً من تخليق البروتينات وتدركها، فإن هذا الفصل يناقش تقويض البروتينات والأحماض الأمينية فقط. أما تخليق البروتينات فقد نوقش في (الفصل 40).

يتدرك 1-2٪ من بروتينات الجسم يومياً عند البالغين:

يقوض الإنسان في كل يوم 1-2٪ من إجمالي البروتينات في جسمه، وبشكل أساسي بروتينات العضلات. ويعاد استخدام 75-80٪ من الأحماض الأمينية المتحررة لتخليق البروتين من جديد. وتتكون اليوريا من النسبة المتبقية من النتروجين (20-25٪)، ثم تتدرك الهياكل الكربونية إلى متوسِّطات متقالبة (الشكل 13-1).



الشكل 31-1 : أيض البروتينات والأحماض الأمينية.

تتدرك البروتينات بمعدلات مختلفة:

تتدرك البروتينات إفرادياً بمعدلات مختلفة كثيراً، وتتفاوت هذه المعدلات استجابة للحاجة الفيزيولوجية. فالمعدلات الوسطية المرتفعة لتدرك البروتينات تميز تلك الأنسجة الخاضعة لإعادة ترتيب بنيوي أساسي (كنسيج الرحم خلال الحمل، ونسيج ذيل الشرغوف خلال التحول إلى الضفدع الكامل، وتدرك بروتينات العضلات الهيكلية في حالات الجوع الشديد).

يعبر عن قابلية بروتين ما للتدرك بعمره النصفي $t_{1/2}$، وهو الزمن اللازم لانخفاض تركيزه حتى 50٪ من قيمته الأولية. وتتراوح الأعمار النصفية لبروتينات الكبد من أقل من 30 دقيقة وحتى أكثر من 150 ساعة. ويوجد في العديد من البروتينات ذات الأعمار النصفية القصيرة التسلسلات PEST، وهي مناطق غنية بالأحماض الأمينية، البرولين (P) والجلوتامات (E) والسيرين (S) والثريونين (T)، وهي التي تستهدفها للتدرك السريع. ويكون للعديد من الإنزيمات المنظمة الرئيسية أعمار نصفية قصيرة. فبالنسبة لأكسيجيناز التربتوفان وناقلة أمين التيروزين ومختزلة HMG-CoA. يبلغ $t_{1/2}$ 0.5-2 ساعة. وتختلف هذه القيم بشكل حاد عن الأعمار النصفية التي يبلغ أكثر من 100 ساعة بالنسبة للألدولاز ونازعة هيدروجين اللاكتات والسيتوكرومات، قد يتسارع أو يتأخر تدرك الإنزيمات المنظمة الأساسية استجابة للحاجة الفيزيولوجية، مما يغير المستويات الإنزيمية، ومن ثم يتبدل تدفق نواتج الأيض وتوزيعها بين السبل الأيضية المختلفة.

تتدرك الأحماض الأمينية الفائضة ولا تخزن:

يحتاج البالغون النموذجيون في الغرب من 30-60 جم من البروتين يومياً للحفاظ على الصحة، أو ما يكافئها من الأحماض الأمينية الحرة. إلا أنه يكون لنوعية البروتين ونسبة الأحماض الأمينية الأساسية في الطعام بالنسبة إلى نسبها في البروتينات الخاضعة للتخليق أهمية حاسمة، ولا تخزن الأحماض الأمينية الفائضة. وبصرف النظر عن المصدر، فإن تلك الأحماض الأمينية التي لا تنجبل فوراً في البروتين الجديد تتدرك بسرعة. ولذلك فإن استهلاك الأحماض الأمينية بشكل مفرط لا يفي بالغرض، لأنها لا يمكن بأي شكل أن تفيد كبديل عن السكريات والشحميات.

تقوم إنزيمات البروتياز والببتيداز بتقويض البروتينات إلى أحماض أمينية:

تحلمه إنزيمات البروتياز داخل الخلوية الروابط الببتيدية الداخلية، محررة الببتيدات التي تتدرك بعد ذلك إلى أحماض أمينية حرة بوساطة إنزيمات الببتيداز. وتشطر إنزيمات الببتيدازات الداخلية الروابط الداخلية مشكلة ببتيدات أقصر. أما إنزيمات الأمينو ببتيداز (Aminopeptidases) والكربوكسي ببتيداز (Carboxypeptidases) فتنزع الأحماض الأمينية بشكل متسلسل من النهايتين الأمينية والكربوكسيلية على الترتيب. وتكون الأحماض الأمينية الحرة هي النواتج النهائية.

تتدرك البروتينات بسبل معتمدة وغير معتمدة على الـ ATP:

هناك سبيلان رئيسيان يجري فيهما تدرك البروتينات داخل خلايا حقيقيات النوى. تتدرك البروتينات خارج الخلوية والبروتينات المرتبطة بالغشاء، والبروتينات داخل الخلوية ذات العمر الطويل في العضيات الخلوية المسماة الجسيمات الحالة (اليحلولات Lysosomes)، بعمليات غير معتمدة على الـ ATP. وبالمقابل يحتاج تدرك البروتينات الشاذة والبروتينات الأخرى ذات العمر القصير لوجود الـ ATP واليوبيكيتين (Ubiquitin)، ويحدث ذلك في العصارة الخلوية.

تقوم مستقبلات البروتينات السكرية اللاسيالية بربط البروتينات السكرية المحكوم عليها بالتدرك:

بالنسبة للبروتينات في الدورة الدموية، كالهرمونات الببتيدية، يؤدي فقدان جزء حمض السياليك من النهايات غير المرجعة بسلاسلها قليلة السكريد إلى استهدافها للتدرك. ويتم التعرف على هذه البروتينات السكرية اللاسيالية وإدخالها، من قبل مستقبلات البروتينات السكرية اللاسيالية في الخلية الكبدية ثم تتدرك في الجسيمات الحالّة بوساطة إنزيمات بروتياز تسمى الكاثبسين (Cathepsin).

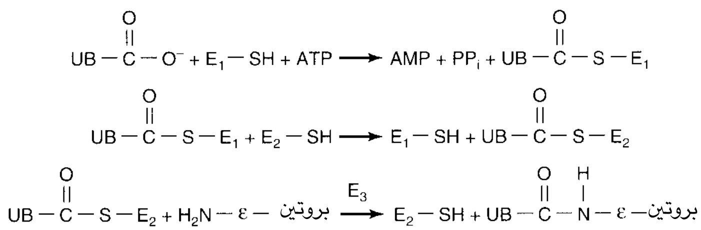
يستهدف اليوبيكيتين العديد من البروتينات داخل الخلوية للتدرك:

يوجد اليوبيكيتين، وهو بروتين صغير (8.5 ك. دالتون)، في جميع خلايا حقيقيات النوى، وهو يسهدف عدة بروتينات داخل خلوية للتدرك. وتتم المحافظة على البنية الأولية لليوبيكيتين إلى حد كبير، وتختلف 3 ثمالات فقط من الـ 76 ثُمالة الموجودة فيه، بين اليوبيكيتين الموجود في الخميرة والإنسان. وتشتق البروتينات المؤشرة للتدرك عن طريق تفاعلات معتمدة على اليوبيكيتين من عدة جزيئات يوبيكيتين. وتكون هذه مرتبطة بتفاعلات تشكل روابط غير – α ببتيدية بين النهاية الكربوكسيلية لليوبيكيتين والزمر ε– أمينو لثمالات الليسيل في البروتين (الشكل 2-31). وسواء كان البروتين المعني مشتقاً أم لا من اليوبيكيتين، فإن ثمالة الأمينو أسيل التي يعتمد عليها تكون موجودة عند نهايته الأمينية. ويعرقل التفاعل مع اليوبيكيتين بثمالة الميثيونيل أو السيريل في النهاية الأمينية، ويتسارع بثُمالة الأسبارتيل أو الأرجينيل في النهاية الأمينية.

تحول الحيوانات النتروجين α ـ أمينو إلى نواتج نهائية متنوعة:

تفرغ الحيوانات النتروجين من الأحماض الأمينية والمصادر الأخرى كواحد من ثلاثة نواتج نهائية: الأمونيا، حمض اليوريك أو اليوريا. أما أي من النواتج هو الذي يغلب فذلك يتوقف على توافر الماء في البيئة الملائمة التي يشغلها كل حيوان:

فـالسـمك كـامل العظم، الذي هو من مـفـرغـات الأمـونيـا (Ammonotelic)، يفـرغ النتروجين بشكل أمونيا. وتسهل بيئتها المائية، التي تمكنها من إفراغ الماء بشكل متواصل، الإفراغ المستمر للأمونيا شديدة السمية. وتحول الحيوانات البرية النتروجين إما إلى حمض اليوريك (الكائنات الحية المفرغة لليوريك Uricotelic) أو إلى يوريا (الكائنات الحية المفرغة لليوريا Ureotelic)؛ أما الطيور التي يجب أن تصون الماء، وتحافظ على وزن منخفض فهي، من مفرغات اليوريك. ثم يجري إفراغ الناتج النهائي غير الذائب نسبياً، أي حمض اليوريك، بشكل جوانو نصف جامد. وتعد حيوانات أرضية عديدة، ومنها الإنسان، من مفرغات اليوريا وتفرغ المركب الذواب بشدة في الماء أي اليوريا. واليوريا مادة غير سامة، وتعد المستويات الدموية المرتفعة لليوريا عند المرضى بالداء الكلوي نتيجة، وليس سبباً، لاضطراب الوظيفة الكلوية.



الشكل 31-2 : تفاعلات جزئية في ارتباط اليوبيكيتين (UB)بالبروتينات. (1) تشكل زمرة COOH الطرفية رابطة ثيوإسترية مع -SH منE_1 في تفاعل يستمر بتحويل ATP إلى AMP و ppi. وبحدوث حلمهة لـ ppi بعد ذلك بوساطة البيروفسفاتاز يصبح من المؤكد أن التفاعل1 سوف يتواصل بسهولة في الاتجاه المشار إليه في الشكل. (2) ويقوم تفاعل تبادل الثيوإستر بنقل اليوبيكيتين المنشط إلى E_2 . (3) ويحفز E_3نقل اليوبيكيتين إلى زمر ε–ليزيل في البروتين الهدف.

التخليق الحيوي لليوريا:

يقسم التخليق الحيوي لليوريا إلى أربع مراحل من أجل المناقشة. (1) نقل الأمين، (2) نزع الأمين التأكسدي من الجلوتامات، (3) نقل الأمونيا، و (4) تفاعلات دورة اليوريا. ويربط الشكلُ 13-3 هذه المراحل بالتقويض الإجمالي لنتروجين الأحماض الأمينية.

تنزع المجموعات α ـ أمينو بنقل الأمين:

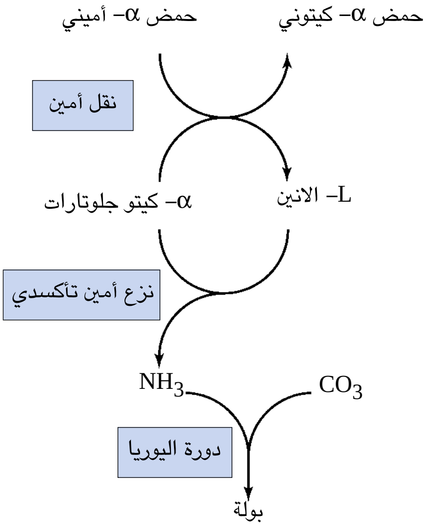
يتم أيض الأحماض الأمينية الحرة المتحررة من البروتينات الغذائية أو داخل الخلوية بطرق متماثلة. فبعد نزع النتروجين α– أمينو عن طريق نقل الأمين، يجري تدرك «الهيكل» الكربوني الناتج بسبل سندرسها في (الفصل 32).

يدخل نتروجين الأحماض الأمينية – α– في الجلوتامات:

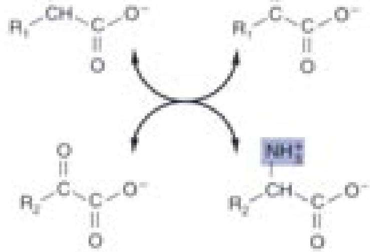
يقوم تفاعل نقل الأمين بتحويل متبادل لزوج من الأحماض الأمينية وزوج من الأحماض الكيتونية، وعموماً هي الحمض الأميني –α– والحمض الكيتوني – α– (الشكل 31-4). وفي حين تخضع معظم الأحماض الأمينية لنقل الأمين، إلا أنه يستثنى كل من الليسين والثريونين والحمضين الإيمينيين الحلقيين البرولين وهيدروكسي البرولين. ونظراً لأن تفاعلات نقل الأمين عكسية تماماً فإن ناقلات الأمين (Transaminases) تستطيع القيام بوظيفتها في التخليق الحيوي للأحماض الأمينية وتقويضها على حد سواء. ويتوضع البيريدوكسال فسفات عند المقر المحفز لجميع ناقلات الأمين وللعديد من الإنزيمات الأخرى التي ركائزها هي الأحماض الأمينية. وتكون الخطوة الأولية بالنسبة لكافة تفاعلات الأحماض الأمينية المعتمدة على البيريدوكسال فسفات هي تشكيل أساس شيف المرتبط بالإنزيم، وهو المتوسط الذي يكون مستقراً عن طريق التآثر مع المنطقة الكاتيونية من المقر الفعال. ويستطيع هذا المتوسط إعادة ترتيب نفسه بطرق مختلفة. فخلال نقل الأمين، يعمل تميم الإنزيم المرتبط كحامل للزمر الأمينية. ويتشكل من إعادة الترتيب حمض كيتوني

والبيريدوكسامين فسفات المرتبطة بالإنزيم. ثم تشكل البيريدوكسامين فسفات أساس شيف مع حمض كيتوني ثان.

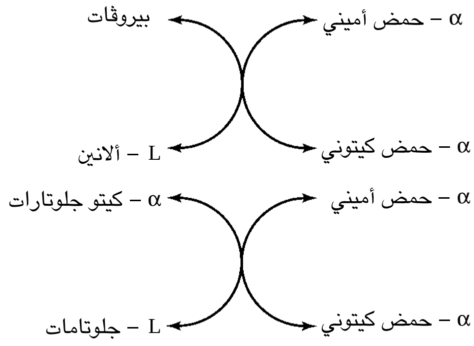
تحفز ناقلة أمين ألانين ـ بيروڤات (ناقلة أمين ألانين) وناقلة أمين جلوتامات– α– كيتوجلوتارات (ناقلة أمين الجلوتامات)، الموجودتان في معظم أنسجة الثدييات، نقل الزمر الأمينية من معظم الأحماض الأمينية لتشكيل ألانين (من البيروڤات)، أو الجلوتامات (من α– كيتوجلوتارات) (الشكل 31-5). وترتفع مستويات ناقلات الأمين في المصل في بعض الحالات المرضية.



الشكل 31-3 : التدفق الكلي للنتروجين في تقويض الأحماض الأمينية.



الشكل 31-4 : نقل الأمين. وينطبق هذا التفاعل على حمضين α– أمينيين وحمضين α– كيتونيين. وتشارك أيضاً زمر غير α– أمينو وغير α– أوكسو في تفاعل نقل الأمين، وإن كان هذا غير شائع نسبياً. هذا التفاعل عكسي تماماً بثابتة توازن تبلغ 1 تقريباً.



الشكل 31-5 : ناقلة أمين ألانين (بالأعلى) وناقلة أمين جلوتامات (بالأسفل).

تكون ناقلات الأمين نوعية لزوج واحد فقط من الأحماض α ـ أمينو و α ـ كيتو:

تكون كل ناقلة أمين نوعية لزوج واحد من الركائز، لكنها غير نوعية للزوج الآخر. وبما أن الألانين هو أيضاً ركيزة لناقلة أمين الجلوتامات، فإنه يمكن لجميع النتروجين الأميني الناتج من الأحماض الأمينية التي تخضع لنقل الأمين أن يتركز في الجلوتامات. وهذا هو المهم في الأمر، لأن الجلوتامات L– هي الحمض الأميني الوحيد في أنسجة الثدييات الذي يخضع لنزع الأمين التأكسدي بمعدل ممكن تقديره. وبذلك يجري تشكيل الأمونيا من الزمر α – أمينو بشكل رئيسي عن طريق التحول إلى النتروجين α– أمينو في الجلوتامات –L.

يمكن أن ينقل أمين زمر غير α– أمينو انتقائياً:

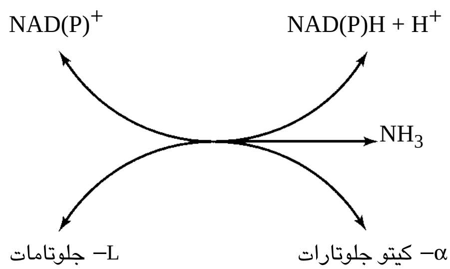
لا يقتصر نقل الأمين على الزمرة α– أمينو. حيث ينقل بسهولة أمين الزمرة الأمينية δ – بالأورنيثين (لكن ليس الزمر الأمينية ε – بالليسين) فتتشكل الجلوتامات –γ– النصف ألدهيدية (الشكل 32-3).

تحتل نازعة هيدروجين الجلوتامات -L موقعاً مركزياً في أيض النتروجين:

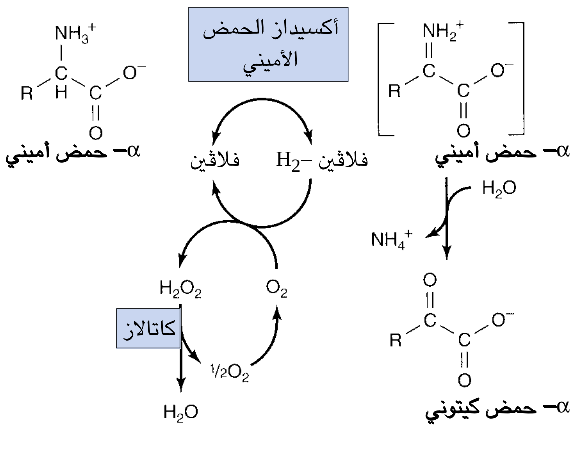
تنقل الزمر الأمينية α– لأغلب الأحماض الأمينية في نهاية الأمر إلى α–كيتوجلوتارات بوساطة نقل الأمين، وتتشكل الجلوتامات –L (الشكل 31-3). ثم يحفز تحرر هذا النتروجين على شكل أمونيا بوساطة نازعة هيدروجين الجلوتامات –L، وهو إنزيم موجود في كل أنسجة الثدييات ويستخدم إما NAD^+ أو $NADP^+$ كمؤكسد (الشكل 31-6). وبهذا الشكل فإن تحويل الزمر الأمينية α– الصافي إلى أمونيا يتطلب فعلاً متناسقاً لناقلة أمين الجلوتامات ونازعة هيدروجين الجلوتامات. وتنظم فعالية نازعة هيدروجين الجلوتامات الكبدية بالمثبطات التفارغية: ATP و GTP و NADH، وبالمنشط ADP. ويقوم هذا التفاعل العكسي بوظيفته بسهولة في كل من تقويض الأحماض الأمينية وتخليقها الحيوي. فهو يقوم، من الناحية التقويضية، بإيصال النتروجين من الجلوتامات إلى اليوريا. أما من الناحية النباتية فهو يحفز ضم الأمين (أمينة) α– كيتو جلوتارات بوساطة الأمونيا الحرة (انظر الفصل 30).

تقوم إنزيمات أكسيداز الأحماض الأمينية بنزع الأمونيا من الأحماض الأمينية – α أيضاً:

تعكس معظم الأمونيا المتحررة من الأحماض الأمينية – L –α الفعل المزدوج لناقلات الأمين ونازعة هيدروجين الجلوتامات -L. إلا أنه توجد أكسيداز للحمض الأميني -L في الكبد والنسيج الكلوي عند الثدييات، حيث تقوم هذه الفلاقو بروتينات (Flavoproteins) القابلة للأكسدة الذاتية بأكسدة الأحماض الأمينية إلى حمض α– إيمينى (α-imino acid)، الذي يضيف الماء ويتفكك إلى حمض α– كيتو موافق مع تحرر أيون الأمونيوم (الشكل 31-7). وتعاد أكسدة الفلاقين المُرجَع مباشرة بالأكسجين الجزيئي، فيتشكل بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) الذي ينشطر إلى O_2 وH_2O بفعل إنزيم الكاتالاز (Catalase) الموجود في العديد من الأنسجة وبخاصة في الكبد.



الشكل 6-31 : تفاعل نازعة هيدروجين L− جلوتامات. تعني $NAD(P)^+$ أنه يمكن لـ NAD^+ أو لـ $NADP^+$ أن يعمل كركيزة مشاركة. التفاعل عكسي، لكن تميل ثابتة التوازن لكفة تشكيل الجلوتامات.



الشكل 7-31 : نزع الأمين التأكسدي بتحفيز أكسيداز الحمض الأميني L− (الإنزيم المؤكسد المرجع للحمض الأمينيα− L: O_2) إن الحمض الإيميني ـ α، المبين ضمن قوسين، لا يكون متوسطاً مستقراً.

إن الانسمام بالأمونيا مهدد للحياة:

تمتص الأمونيا المتولدة بفعل الجراثيم المعوية إلى دم الوريد البابي، الذي يحوي بالتالي مستويات مرتفعة من الأمونيا أكثر مما في الدم الجهازي. ونظراً لأن الكبد السليم يزيل هذه الأمونيا على الفور من الدم البابي، فإن الدم المحيطي يخلو منها فعلياً. وهذا الأمر ضروري، لأنه حتى الكميات الزهيدة من الأمونيا تكون سامة للجهاز العصبي المركزي. وعندما يجري الدم البابي متجنباً الكبد، يمكن أن ترتفع الأمونيا في الدم الجهازي إلى مستويات سامة، ويلي ذلك حدوث اضطراب وخيم بالوظيفة الكبدية، أو ظهور تواصلات رادفة بين الأوردة البابية والجهازية، مثلما قد يحدث في تليف الكبد. وتتضمن أعراض الإنسمام بالأمونيا: الرعاش وتلعثم الكلام وعدم وضوح الرؤيا، وفي الحالات الوخيمة: السبات والموت. وتماثل هذه الأعراض تلك في السبات الكبدي، الذي يحدث عندما ترتفع مستويات الأمونيا في الدم والدماغ. وتؤكد المعالجة على أهمية الإجراءات المخصصة لإنقاص مستويات الأمونيا في الدم.

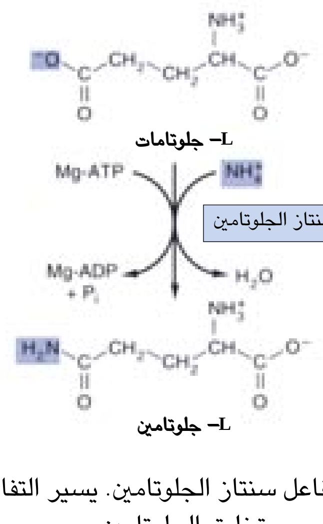
يثبت سنتاز الجلوتامين الأمونيا بشكل جلوتامين :

على الرغم من أن الأمونيا تنتج بشكل ثابت في الأنسجة، إلا أنها تزال بسرعة من الدم عن طريق الكبد، وتتحول إلى جلوتامات وجلوتامين، وفي نهاية الأمر إلى يوريا. ولذلك توجد الأمونيا عادة بكميات زهيدة فقط في الدم المحيطي (10-20 مكجم/100 مل). وبالإضافة إلى تثبيت الأمونيا عن طريق تفاعل نازعة هيدروجين الجلوتامات، فإنه يحفز تشكيل الجلوتامين بسنتاز الجلوتامين (الشكل 31-8)، وهو إنزيم متقدري يوجد بكميات كبيرة في النسيج الكلوي. ويتحقق تخليق الرابطة الاميدية بالجلوتامين على حساب حلمهة مكافئ واحد من الـ ATP إلى ADP و pi. لذلك يجري التفاعل بقوة باتجاه تخليق الجلوتامين. وعلى الرغم من أن النسيج الدماغي يستطيع تشكيل اليوريا، فإنه يبدو أن هذا النسيج لا يمارس دوراً مهماً في إزالة الأمونيا. ففي نسيج الدماغ، الآلية الرئيسية لإزالة سمية الأمونيا هي تشكيل الجلوتامين. إلا أنه عندما ترتفع مستويات الأمونيا في الدم، يكون الإمداد المتاح

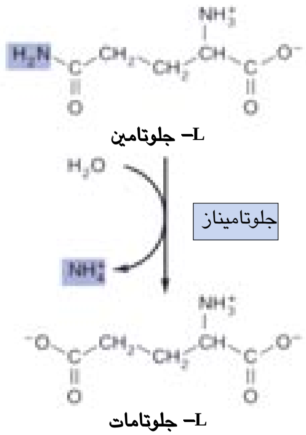
للدماغ من جلوتامات الدم غير كاف لتشكيل الجلوتامين. لذلك يجب على الدماغ أن يقوم أيضاً بتخليق الجلوتامات من α – كيتوجلوتارات، وهذا يؤدي إلى نفاد سريع لمتوسطات دورة حمض السيتريك ما لم يتم التعويض عنها بتثبيت CO_2 بتحويل البيروفات إلى أُكسالوأسيتات (انظر الفصل 18). ويجري فعلياً تثبيت CO_2 بالأحماض الأمينية في النسيج الدماغي. وبعد تسريب الأمونيا، تتحول متوسطات دورة حمض السيتريك إلى تخليق α– كيتوجلوتارات وبالتالي الجلوتامين.

تنزع الجلوتاميناز والأسباراجيناز الأميد من الجلوتامين والأسبارجين:

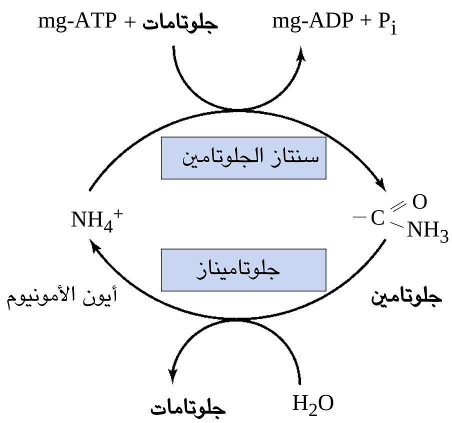
إن تحرير النتروجين الأميدي على شكل أمونيا، بعد حلمهة الجلوتامين بتحفيز الجلوتامـــيناز (Glutaminase) (الشكل 31-9)، يصب بقـــوة في صـــالح تشكيل الجلوتامات. وبذلك فإن كل من سنتاز الجلوتامين والجلوتاميناز يحفزان التحول البيني لأيون الأمونيوم الحر والجلوتامين (الشكل 31-10). ويجري تحفيز تفاعل مماثل بوساطة الأسباراجيناز-L . وبما أن بعض الأورام تبدي احتياجات كبيرة على نحو غير سوي من الجلوتامين والأسباراجين، لذلك فقد تم اختبار الأسباراجيناز والجلوتاميناز كعوامل مضادة للأورام.



الشكل 31-8 : تفاعل سنتاز الجلوتامين. يسير التفاعل بقوة نحو تخليق الجلوتامين.



الشكل 31-9 : يتواصل تفاعل الجلوتاميناز بشكل أساسي عكسياً في اتجاه تشكيل الجلوتامات و+NH4. لاحظ أنه يتم نزع النتروجين الأميدي وليس α– الأميني.



الشكل 31-10 : التحول البيني لأيون الأمونيوم وللجلوتامين بتحفيز سنتاز الجلوتامين والجلوتاميناز. يميل كلا التفاعلين لكفة الاتجاهات المشار إليها بالأسهم. لذلك فإن الجلوتاميناز يعمل في نزع أمين الجلوتامين فحسب. وسنتاز الجلوتامين في تخليق الجلوتامين من الجلوتامات فقط.

يحافظ تشكيل الأمونيا وإفرازها على التوازن الحمضي ـ القاعدي:

يسهل إفراغ الأمونيا المنتجة من الخلايا النبيبية الكلوية في البول المحافظة على الكاتيونات (الهوابط) وتنظيم التوازن الحمضي ـ القاعدي. ويزداد إنتاج الأمونيا المشتقة من الأحماض الأمينية داخل الخلايا الكلوية، بخاصة الجلوتامين، الذي تتحرر منه بفعل الجلوتاميناز الكلوي، في الحماض الأيضي (Metabolic acidosis)، وينقص في القلاء الأيضي (Metabolic alkalosis).

يحافظ التبادل بين الأعضاء على مستوى الأحماض الأمينية:

تعتمد صيانة تراكيز الأحماض الأمينية البلازمية بحالة ثابتة بين الوجبات على التوازن الصافي بين التحرير من المخازن البروتينية داخلية المنشأ والاستعمال في مختلف الأنسجة. وتولد العضلات أكثر من نصف جميعة الجسم الإجمالية من الأحماض الأمينية الحرة، في حين يكون الكبد مقراً لإنزيمات دورة اليوريا الضرورية للتخلص من النتروجين الفائض. وبذلك يلعب الكبد والعضلات أدواراً رئيسية في المحافظة على مستويات الأحماض الأمينية في الدم.

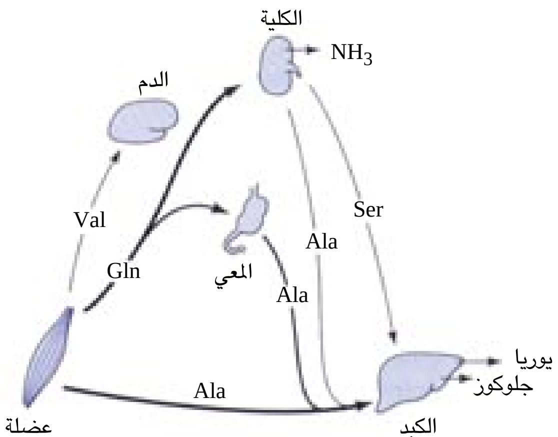
يلخص (الشكل 31-11) الحالة بعد الامتصاص، حيث تحرر الأحماض الأمينية الحرة، بخاصة الألانين والجلوتامين، من العضلات إلى الدم. وقبل كل شيء يستخلص الألانين، الذي يبدو أنه يعمل كحمال لنقل النتروجين في البلازما، من قبل الكبد. ويستخلص الجلوتامين من الأمعاء والكلية حيث أن كلاهما يحول جزءاً كبيراً منه إلى ألانين. ويفيد الجلوتامين أيضاً كمصدر للأمونيا لإفراغها عن طريق الكلية. وتوفر الكلية مصدراً رئيسياً للسيرين لقبطه من الأنسجة المحيطية، ومنها الكبد والعضلات، وتتحرر الأحماض الأمينية ذات السلسلة المتفرعة، بخاصة الفالين، من العضلات ويأخذها المخ بشكل رئيسي.

يعمل الألانين كحمض أميني أساسي مكون للجلوكوز (الشكل 31-12). وفي الكبد، يكون معدل تخليق الجلوكوز من الألانين أعلى بكثير من جميع الأحماض الأمينية الأخرى. ولا تصل سعة الكبد على استحداث السكر من الألانين إلى الإشباع، إلى أن يبلغ تركيز الألانين 20-30 ضعف مستواه الفيزيولوجي.

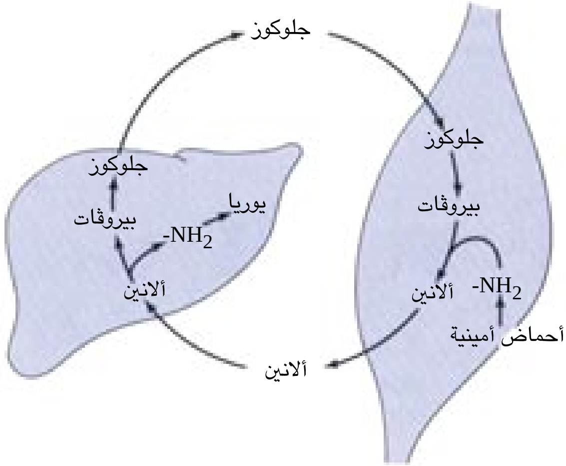
تحرر الأنسجة الحشوية، بعد وجبة غنية بالبروتين، الأحماض الأمينية (الشكل 31-13)، في حين تستخلص العضلاتُ المحيطية الأحماض الأمينية، وغالباً الأحماض الأمينية ذات السلسلة المتفرعة في كلا الحالتين. وبذلك فإن الأحماض الأمينية ذات السلسلة المتفرعة تقوم بدور خاص في أيض النتروجين في كل من حالة الصيام، عندما تقوم بتزويد الدماغ بمصدر للطاقة، وفي حالة بعد الإطعام، عندما يجري استخلاصها غالباً من قبل العضلات والتي قام الكبد بتوفيرها (لم يقبطها).

اليوريا هي الناتج النهائي الرئيسي لتقويض النتروجين عند الإنسان:

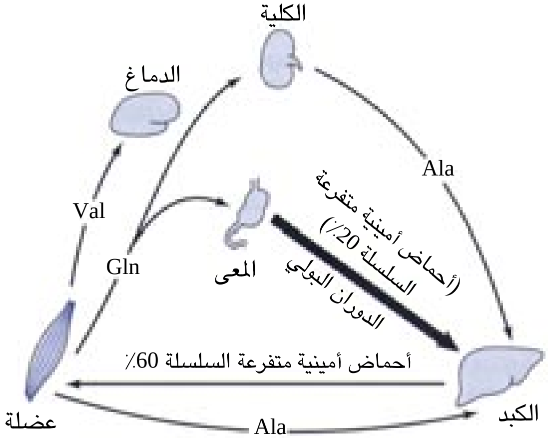
يفرغ الإنسان الذي يستهلك 300 جم من الكربوهيدرات و 100ج من الدهون و100 جم من البروتين يومياً، نحو 16.5 جم من النتروجين يومياً، 95٪ منها في البول و 5٪ في البراز. أما بالنسبة للأفراد الذين يستهلكون الأطعمة الغربية فإن اليوريا التي يتم تخليقها في الكبد وتتحرر إلى الدم وتصفى بالكليتين تشكل 80-90٪ من النتروجين المفرغ.



الشكل 31-11 : تبادل الأحماض الأمينية بين الأعضاء بعد الامتصاص السوي عند الإنسان. ويظهر هنا الدور الأساسي للألانين في نتاج الأحماض الأمينية من العضلة والمعى والقبط إلى الكبد.



الشكل 31-12 : دورة جلوكوز ـ ألانين. يتم تخليق الألانين في العضلة بنقل أمين البيروڤات المشتقة من الجلوكوز، ثم يتحرر إلى مجرى الدم ويقبط من قبل الكبد. ويعاد في الكبد تحويل الهيكل الكربوني للألانين إلى الجلوكوز وتحريره إلى مجرى الدم، حيث يكون متاحاً لتقبطه العضلة ولإعادة تخليق الألانين.



الشكل 31-13 : ملخص لتبادل الأحماض الأمينية بين الأعضاء بعد الإطعام مباشرة.

تتشكل اليوريا من الأمونيا وثاني أكسيد الكربون والأسبارتات.

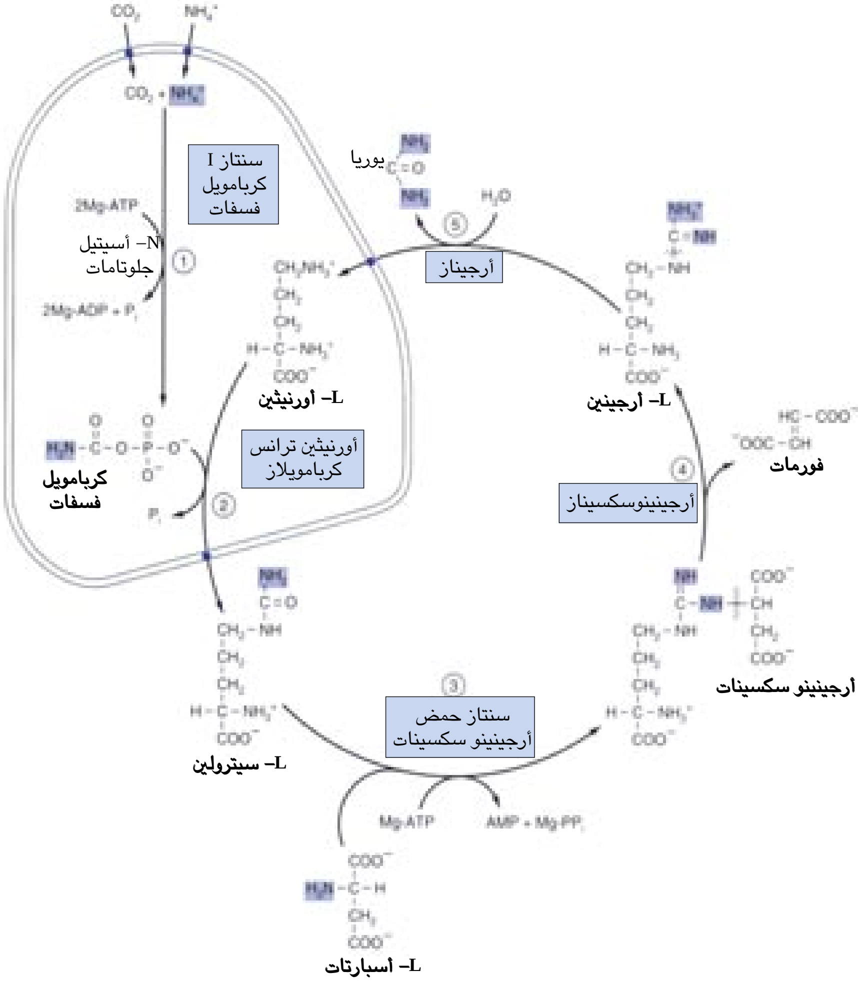
يحتاج تخليق جزيء واحد من اليوريا إلى 3 جزيئات من الـ ATP و 1 جزيء من كل من أيون الأمونيوم ونتروجين α – أمينو الأسبارتات. وتقوم خمسة إنزيمات بتحفيز التفاعلات المرقمة (بالشكل 31-14). ومن بين الأحماض الأمينية الست المشاركة، يقوم N– أسيتيل جلوتامات بوظيفة منشط للإنزيم فحسب، أما الأخرى فتعمل كحوامل للذرات التي ستصبح في نهاية الأمر اليوريا. وعند الثدييات: يكون الدور الأيضي الرئيسي لكل من الأورنيثين والسيترولين والأرجينينو سكسينات هو تخليق اليوريا. وتجدر الإشارة هنا إلى أن التخليق الحيوي لليوريا هو عملية حلقية. حيث أن الأورنيثين المستهلك في التفاعل 2 يعاد توليده في التفاعل 5، ولا يوجد ضياع صاف أو كسب صرف للأورنيتين أو السيترولين أو الأرجينينو سكسينات أو الأرجينين. إلا أنه يجري استهلاك أيون الأمونيوم و CO_2 و ATP والأسبارتات. وكما هو موضح في (الشكل 31-14)، تحدث بعض تفاعلات تخليق اليوريا في مطرس المتقدرات، في حين تحدث التفاعلات الأخرى في العصارة الخلوية.

يستهل سنتاز I الكرباموبل فسفات التخليق الحيوي لليوريا:

يبدأ التخليق الحيوي لليوريا بتكاثف ثاني أكسيد الكربون والأمونيا و ATP، لتشكيل الكرباموبل فسفات (Carbamoyl Phosphate)، بتفاعل يحفزه سنتاز I الكرباموبل فسفات (الشكل 31-14). وتحوي أنسجة الإنسان شكلين من سنتاز الكرباموبل فسفات هما: سنتاز I الكرباموبل فسفات، الإنزيم الوظيفي في تخليق اليوريا، وهو إنزيم في متقدرات الكبد. والشكلُ الثاني سنتاز II الكرباموبل فسفات، وهو إنزيم في العصارة الخلوية يستخدم الجلوتامين، وليس الأمونيا، كمانح للنتروجين، ويشترك في التخليق الحيوي للبيريميدين (انظر الفصل 36).

ويتطلب تشكيل الكرباموبل فسفات جزيئين من الـ ATP. يعمل أحدهما كمصدر للفسفات. ويوفر تحول الثاني إلى AMP وبيروفسفات، إلى جانب الحلمهة المقترنة للبيروفسفات إلى أورثوفسفات، القوة المحركة لتخليق الرابطة الأميدية والرابطة الأنهيدريدية (اللامائية) الحمضية المختلطة للكرباموبل فسفات. وبهذا الشكل فإن الفعل المتناسق لنازعة هيدروجين الجلوتامات وسنتاز I الكرباموبل فسفات يدمج

النتروجين في الكربامويل فسفات، وهو متوسط ذو إمكانية كبيرة على نقل الزمر.



الشكل 14-31 : تفاعلات التخليق الحيوي لليوريا ومتوسطاته. تم تظليل الزمر التي تحوي النتروجين والتي تشترك في تشكيل اليوريا. يجري التفاعلان 1 و 2 في مطرس متقدرات الكبد والتفاعلات 3و4و5 في العصارة الخلوية الكبدية. يدخل كل من CO_2 (بشكل بيكربونات)، وأيون الأمونيوم، والأورنيثين، والسيترولين إلى المطرس المتقدري عن طريق حوامل نوعية (٪) موجودة في الغشاء الداخلي للمتقدرات الكبدية.

يتقدم هذا التفاعل المعقد بالتدريج، على الأرجح كما يلي: يشكل تفاعل البيكربونات والـ ATP الكربونيل فسفات والـ ADP، ثم تحل الأمونيا محل الـ ADP فيتشكل الكربامات والأورثوفسفات. ويتشكل في النهاية الكرباموبل فسفات بفعل فسفتة الكربامات بالـ ATP الثاني. ويكون سنتاز I الكرباموبل فسفات هو المحدد للمعدل، أو المحدد للخطوة؛ إنزيم دورة اليوريا؛ ويكون هذا الإنزيم المنظم نشيطاً فقط بوجود المنشط التفارغي N– أسيتيل جلوتامات (N-acetylglutamate) حيث يؤدي ارتباطُ هذا الأخير إلى تحريض تبدل فراغي يعزز ألفة السنتاز تجاه الـ ATP.

يتشكل السيترولين من الكرباموبل فسفات والأورنيثين:

تحفز ناقلة كرباموبل الأورنيثين -L نقل قسم الكرباموبل من الكرباموبل فسفات إلى الأورنيثين، فيتشكل السيترولين والأورثوفسفات (الشكل 31-14). وفي حين يجري هذا التفاعلُ في المطرس المتقدري، فإن الحيز الذي تتشكل فيه ركيزة الأورنيثين ويجري فيه أيض إضافي للناتج السيترولين هو العصارة الخلوية. لذلك فإن دخول الأورنيثين إلى المتقدرات وخروج السيترولين منها يتضمن جملاً للنقل عبر الغشاء المتقدري الداخلي (الشكل 31-14).

يشكل السيترولين مع الأسبارتات الأرجينيوسكسينات :

يربط تفاعل سنتاز الأرجينيوسكسينات الأسبارتات بالسيترولين عن طريق الزمرة الأمينية للأسبارتات (الشكل 31-14)، وهو يوفر النتروجين الثاني لليوريا. ويتطلب هذا التفاعلُ الـ ATP، ويتضمن تشكل المتوسط سيتروليل -AMP. ثم يتشكل السيترولين نتيجة إزاحة الـ AMP بالأسبارتات.

يتشكل الأرجينين والفومارات من انشطار الأرجينينوسكسينات:

يحفز إنزيم أرجينينو سكسيناز (Argininosuccinase) تفاعل انشطار

الأرجينينوسكسينات، وهو تفاعل حذف مفروق عكسي، ويبقى بالنتيجة النتروجين في الأرجينين الناتج، ويتحرر هيكل الأسبارتات بشكل فومارات (الشكل 31-14). وتشكل إضافة الماء إلى الفومارات مركب المالات – L.

ثم تجري أكسدة المالات المعتمدة على NAD^+ لتشكيل الأوكسالو أسيتات. ويحفز هذين التفاعلين، مع أنهما مماثلان لتفاعلات دورة حمض السيتريك، بوساطة الفوماراز ونازعة هيدروجين المالات في العصارة الخلوية. ثم يؤدي نقل أمين الأكسالوأسيتات بالجلوتامات إلى إعادة تشكيل الأسبارتات. وبهذا الشكل فإن الهيكل الكربوني للأسبارتات / الفومارات يعمل كحامل لنقل النتروجين من الجلوتامات إلى طليعة اليوريا.

يحرر انشطار الأرجينين اليوريا ويعيد تشكيل الأورنيثين:

يؤدي التفاعل النهائي في دورة اليوريا، وهو انشطار بالحلمهة لزمرة الجواندينو في الأرجينين المحفز بالأرجيناز (Arginase) الكبدية، إلى تحرير اليوريا. أما الناتج الآخر، الأورنيثين، فيدخل المتقدرات الكبدية من جديد للمشاركة في جولات جديدة من دورة اليوريا. كما توجد كميات أصغر من الأرجيناز في النسيج الكلوي والمخ وغدة الثدي والنسيج الخصوي والجلد أيضاً. ويعدُّ الأورنيثين والليسين مثبطين قويين للأرجيناز حيث ينافسان الأرجينين. يعمل الأرجينين أيضاً كطليعة مباشرة لأكسيد النتريك (NO)، المرخي العضلي القوي، في تفاعل معتمد على الـCa^{2+} ويحفزه سنتاز NO (الفصل 58).

إن سنتاز I الكرباموبل فسفات هو الإنزيم المنظم لدورة اليوريا:

تتحدد فعالية سنتاز I الكرباموبل فسفات بتركيز منشطه التفارغي N– أسيتيل جلوتامات في الحالة الثابتة، ويتحدد مستوى الحالة الثابتة بمعدلات تخليقه من أسيتيل -CoA والجلوتامات وحلمهته إلى الأسيتات وجلوتامات؛ وتحفز هذه التفاعلات بسنتاز N– أسيتيل جلوتامات وهيدرولاز - N أسيتيل جلوتامات، على

الترتيب. إضافة إلى ذلك، إن التبدلات الرئيسية في غذاء النماذج الحيوانية، ومن المحتمل في غذاء أفراد من البشر أيضاً، يمكن أن تغير تراكيز إنزيمات دورة اليوريا كلاً على حدة بمقدار عشرة إلى اثني عشر ضعفاً. فعند الجوع، على سبيل المثال، ترتفع مستويات الإنزيمات، على الأرجح لتتماشى مع الإنتاج الزائد من الأمونيا الذي يترافق مع تعزيز تَدَرُّك البروتينات.

ترتبط الاضطراباتُ الأيضية بكل تفاعل في دورة اليوريا:

توضح الاضطرابات الأيضية في التخليق الحيوي لليوريا، على الرغم من أنها نادرة للغاية، أربعة مبادئ وثيقة الصلة ببعضها من الناحية الطبية: (1) يمكن للعيوب في العديد من إنزيمات سبيل أيضي ما أن تؤدي إلى علامات وأعراض سريرية متماثلة جوهرياً. (2) إن تراكمَ المتوسطات قبل الإحصار الأيضي، أو تراكم النواتج المعاونة، يعطي فكرة عن التفاعل المتضرر. (3) يحتاج التشخيص الدقيق لمقايسة كمية للتفاعل المحفز بالإنزيم الذي يعتقد أنه معيب. (4) يجب أن تعتمد المعالجة المنطقية على الفهم التام للتفاعلات الكيميائية الحيوية المستبطنة في أفراد أسوياء وآخرين مصابين بالاضطراب.

نظراً لأن تخليق اليوريا يحول الأمونيا السامة إلى يوريا غير سامة، لذلك تؤدي كافة عيوب تخليق اليوريا إلى الانسمام بالأمونيا. ويكون هذا الانسمام أكثر وخامة عندما يحدث الإحصار الأيضي عند التفاعلين 1 أو 2، لأن بعض الروابط التكافؤية (التساهمية) للأمونيا مع الكربون تنشأ على الفور عندما يجري تخليق السيترولين. وتتضمن الأعراض السريرية المشتركة بين جميع الاضطرابات في دورة اليوريا كلاً من القياء وتجنب الأطعمة الغنية بالبروتين والرنح المتقطع والهيوجية والوسن والتخلف العقلي. وتكون الملامح السريرية والمعالجة في كل الاضطرابات الخمس التي تمت مناقشتها أدناه متماثلة. ويحدث تحسن مهم عند الاعتماد على غذاء فقير بالبروتين، وبذلك يمكن الوقاية من حدوث أذية كبيرة في الدماغ. وينبغي أن يكون

مدخول الطعام بشكل وجبات صغيرة متكررة لتجنب الازدياد المفاجئ في مستويات الأمونيا في الدم.

(1) فرط أمونيا الدم (Hyperammonemia) النمط I: أشارت التقارير إلى وجود 24 حالة تقريباً من عوز سنتاز I الكربامويل فسفات (التفاعل 1، الشكل 31-14) ويكون هذا الاضطراب عائلياً على الأرجح.

(2) فرط أمونيا الدم النمط 2 : يسبب عوز ناقلة كربامويل الأورنيثين (التفاعل 2، الشكل 31-14) هذه الحالة المرتبطة بالصبغي X. وتبدي الأمهات أيضاً فرط أمونيا الدم وهن يمقتن الأطعمة الغنية بالبروتين. وتكون الموجودة السريرية الوحيدة الثابتة هي ارتفاع الجلوتامين في الدم والسائل الدماغي الشوكي والبول، والذي يعكس على الأغلب تعزيز تخليق الجلوتامين نتيجةَ ارتفاع مستويات الأمونيا في الأنسجة.

(3) وجود السيترولين في الدم (Citrullinemia): إن هذا الاضطراب النادر هو على الأرجح موروث بشكل متنح. ويتم إفراغ من 1 إلى 2 جم من السيترولين في البول يومياً، وتكون مستويات السيترولين في البلازما والسائل الدماغي الشوكي مرتفعة. وقد وجد أن أحد المرضى يفتقر لإمكانية كشف فعالية سنتاز الأرجينينو سكسينات (التفاعل 3، الشكل 31-14). وعند مريض آخر كانت K_m السيترولين أكبر من السوي بـ 25 مرة، وهذا يوحي بوجود تعديل غير مهلك في المقر المُحَفِّز. ويعمل كل من السيترولين والأرجينينو سكسينات كحوامل بديلة للنتروجين الفائض، لأنهما يحويان نتروجيناً معداً لتخليق اليوريا. ويعزز تناول الأرجينين إفراغ السيترولين عند هؤلاء المرضى. وعلى غرار ذلك، يؤدي تناول البنزوات إلى تحويل نتروجين الأمونيا إلى الهيبورات عن طريق الجليسين (انظر الشكل 33-1).

(4) بيلة حمض الأرجينينوسكسينيك (Argininosuccinicaciduria): يكون هذا الداء النادر الموروث بشكل متنح والمتميز بارتفاع مستويات الأرجينينو سكسينات في الدم والسائل النخاعي (CSF) والبول، مترافقاً مع ظهور شعر بشكل خصل سهل الانسحاق (تقصف الشعر العقد Trichorrhexis nodosa). وفي حين أن النمطين المعروفين يبدأ أحدهما مبكراً والآخر متأخراً، فإن المرض يتظاهر دائماً في السنة الثانية من العمر، وينتهي عادة على نحو مميت وبشكل مبكر من العمر.

وتعكس بيلة حمض الأرجينينوسكسينيك غياب الأرجينينو سكسيناز (التفاعل 4، الشكل 31-14). وعلى الرغم من أن التشخيص ينجز بسرعة عن طريق الاستشراب (Chromatography) ثنائي البعد للبول، إلا أنه تظهر بقع شاذة أخرى في البول عند تركه قائماً بسبب ميل الأرجينينو سكسينات إلى تشكيل أنهيدريدات حلقية. ويتطلب إثبات التشخيص قياس فعالية الأرجينينو سكسيناز في الكريات الحمر. ويمكن إجراءُ هذا الاختبار على دم الحبل السري أو خلايا السائل السلوي. وكما هو الأمر بالنسبة لوجود السيترولين في الدم، فإن تناول الأرجينين والبنزوات يحرض إفراغ النتروجين عند هؤلاء المرضى.

(5) فرط أرجينين الدم (Hyperargininemia): يتميز هذا العيب في تخليق اليوريا بارتفاع مستويات الأرجينين في الدم والسائل الدماغي الشوكي وبانخفاض مستويات الأرجيناز في الكريات الحمر (التفاعل 5، الشكل 31-14)، وبوجود طراز من الأحماض الأمينية في البول يماثل ذلك الموجود في بيلة الليسين ـ سيستين. ومن المحتمل أن يعكس هذا الطراز تنافس الأرجينين مع الليسين والسيستين على عودة الامتصاص في النبيب الكلوي. ويؤدي الغذاء الفقير بالبروتين إلى تخفيض مستويات الأمونيا في البلازما والتخلص من بيلة الليسين ـ السيستين البولية.

تعد المعالجة الجينية بتصحيح العيوب في التخليق الحيوي لليوريا:

إن المعالجة الجينية بهدف تقويم العيوب في الإنزيمات التي تحفز تفاعلات دورة اليوريا هي موضوع بحثٍ فعال. وقد جرى الحصول على نتائج تمهيدية مشجعة، على سبيل المثال، في نماذج حيوانية باستخدام ناقل للڤيروسات الغدانية لمعالجة وجود السيترولين في الدم.

الخلاصة:

يشير الأطباء السريريون والمختصون بالتغذية إلى التوازن النتروجيني الإيجابي والتوازن النتروجيني السلبي والتوازن النتروجيني من أجل التمييز بين حالات

التغذية النتروجينية. ويجري تقلب البروتين والتخليق المتواصل وتقويض البروتينات في كل أشكال الحياة. ففي كل يوم يتدرك عند الإنسان 1-2٪ من البروتينات الإجمالية في جسمه، بشكل أساسي من العضلات الهيكلية. وتختلف معدلات التدرك بين البروتينات بشكل واسع، وقد تتباين معدلات التدرك في حالات فيزيولوجية مختلفة. وتتفاوت الأعمار النصفية للبروتينات، أي الزمن اللازم لتدرك نصف البروتين الموجود، من 30 دقيقة حتى أكثر من 150 ساعة. وغالباً ما تكون الأعمار النصفية القصيرة جداً سمة مميزة للإنزيمات التي تنجز أدواراً منظمة أساسية. وتقوم إنزيمات البروتياز والببتيداز بتدرك البروتينات بكل من سبل معتمدة وغير معتمدة على الـ ATP. وبالنسبة للبروتينات السكرية فى الدورة الدموية، فإن مستقبلات البروتينات السكرية اللاسيالية على سطح الخلية الكبدية تربط وتدخل البروتينات السكرية اللاسيالية المحكوم عليها بالتدرك بإنزيمات البروتياز في الجسيمات الحالة.

أما بالنسبة العديد من البروتينات داخل الخلوية فإن ارتباطها بعدة جزيئات من اليوبيكويتين هو الذي يهدف بجعل هذه البروتينات هدفاً للتدرك. تتدرك الأحماض الأمينية المتحررة من تقويض البروتينات، أو المتناولة فوق الحاجة، لكنها لا تخزن. إن الأمونيا شديدة السمية لجميع الحيوانات. وحيث أن السمك يفرغ الأمونيا مباشرة، فإن الحاجة للمحافظة على الماء تحول دون أن يكون هذا هو الطريق الرئيسي للتخلص من النتروجين عند الطيور أو الحيوانات البرية. وتقوم الطيور بإزالة سمية الأمونيا بتحويلها إلى حمض اليوريك. أما الإنسان والفقاريات الراقية الأخرى فتحول الأمونيا إلى يوريا.

وفي كلا الحالتين، يكون التفاعل الأولي في تقويض الأحماض الأمينية هو نزع الزمرة الأمينية – α بنقل الأمين، ويحتاج هذا التفاعل للبيريدوكسال فسفات، وبهذا الشكل يؤدي نقل الأمين إلى إدخال نتروجين الأحماض الأمينية ـ α بالجلوتامات. ويقوم أيضاً أكسيداز الأحماض الأمينية ـ L بنزع أمين الأحماض الأمينية ـ α ولو أن لهذا أهمية فيزيولوجية معينة أقل. وتحتل نازعة هيدروجين الجلوتامات ـ L موضعاً مركزياً في أيض النتروجين. ويكون الانسمام بالأمونيا مهدداً للحياة؛ ويُحول سنتاز الجلوتامين الأمونيا إلى الجلوتامين غير السام وينقل إلى الكبد؛ ثم

تحرر الجلوتاميناز الكبدية الأمونيا من الجلوتامين لاستخدامها في تخليق اليوريا. ويحافظ التبادل بين الأعضاء على مستوى الأحماض الأمينية فى الدورة الدموية، وتتميز حالةُ ما بعد الامتصاص بمجموعة معقدة من التبادلات بين الأعضاء.

يتم تخليق اليوريا، وهي الناتج النهائي الرئيسي لتقوض النتروجين عند الإنسان، من الأمونيا وثاني أكسيد الكربون والنتروجين الأميدي للأسبارتات. تجري التفاعلات جزئياً في المطرس المتقدري، وجزئياً في العصارة الخلوية. أما تخليق الكربامويل فسفات من أيون الأمونيوم و CO_2 فيحدث في متقدرات الكبد، وذلك بتكاثف الكربامويل فسفات مع الأورنيثين لتشكيل السيترولين. أما التفاعلات التالية فتجري في العصارة الخلوية. ويؤدي التفاعل النهائي، المحفز بالأرجيناز، إلى شطر الأرجينين إلى يوريا وأورنيثين، فتكتمل الحلقة. ويتضمن تنظيم التخليق الحيوي لليوريا كلاً من التبدلات في المستويات الإنزيمية والتنظيم التفارغي لفعالية سنتاز I الكرباموبل فسفات بوساطة N– أسيتيل جلوتامات. وترتبط العيوب الولادية في الأيض بكل تفاعل في دورة اليوريا، وهي تشمل فرط أمونيا الدم من النمطين 1 و 2 ووجود السيترولين في الدم وبيلة حمض الأرجينينو سكسينيك وفرط أرجينين الدم.

***References:**

Curthoys NP, Watford M: Regulation of glutaminase activity and glutamine metabolism. *Annu Rev Nutr* 1995,15:133.

Gebhardt R, Gaunitz F, Mecke D: Heterogeneous (positional) expression of hepatic glutamine synthetase: Features, regulation and implications tor carcinogenesis. *Adv Enzyme Regul* 1994;34:27.

Hershko A, Ciehanover A: The ubiquitin system for protein degradation. *Annu Rev Biochem* 1992;61:761.

Iyer R et al: The human arginases and arginase deficiency. *J Inherit Metab Dis* 1998,21 :86.

Morris SM Jr: Regulation of enzymes of urea and arginine biosynthesis. *Annu Rev Nutr* 1992,12:81.

Patejunas G et al: Evaluation of gene therapy for citrullinaemia using murine and bovine models. *J Inherit Metab Dis* 1998;21:138.

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed. McGraw-Hill, 1995.

Torchinsky YM: Transamination: Its discovery, biological and clinical aspects (1937-1987). *Trends Biochem Sci* 1987;12:115.

Tuchman M et al: The biochemical and molecular spectrum of ornithine transcarbamoylase deficiency. *J Inherit Metab Dis* 1998;21:40.

Turner MA et al: Human argininosuccinate Lyase: A structural basis for intragenic complementation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:9063.

الفصل الثاني والثلاثون

تقويض الهياكل الكربونية للأحماض الأمينية

Catabolism of the Carbon Skeletons of Amino Acids

مقدمة:

ناقش الفصل السابق المصير الأيضي لذرات النتروجين في الأحماض الأمينية. أما الفصل الراهن فيهتم بتحول الهياكل الكربونية للأحماض الأمينية -L الشائعة إلى متوسطات متقابلة، وبالأمراض الأيضية «أو العيوب الولادية في الأيض» المرتبطة مع سبل التقويض هذه.

الأهمية الطبية البيولوجية:

لعبت بعض الاضطرابات في أيض الأحماض الأمينية أدواراً رئيسية في توضيح السبل التي يجري فيها أيض الأحماض الأمينية عند الإنسان السوي. وعلى الرغم من أن معظم هذه الأمراض نادرة، والاحتمال بعيد في أن يُصادفها معظم الأطباء الممارسين، إلا أنها تطرح تحديات هائلة لكل من الأطباء النفسانيين وأطباء الأطفال والاستشاريين الوراثيين والباحثين في البيولوجيا الجزيئية. ويؤدي العديد من هذه

الاضطرابات، فيما إذا تركت دون علاج إلى تلف غير عكوس بالدماغ ووفاة مبكرة. لذلك فإن الكشف قبل الولادة أو مبكراً بعد الولادة، والبدء بالمعالجة الملائمة بسرعة إن كانت متاحة، هي من الأمور الأساسية. ونظراً لأن عدداً من الإنزيمات ذات الصلة تكون قابلة للكشف في مستنبتات خلايا السائل السلوي، فإن التشخيص قبل الولادة ببزل السائل السلوي هو أمر ممكن.

تتألف المعالجة بشكل رئيسي من الإطعام بغذاء فقير بالأحماض الأمينية التي يكون تقويضها مختلاً. إلا أن تكنولوجيا الدنا DNA المأشوب تعطي وعداً (أملاً) كبيراً بإتمام الجينات المعيبة بالمعالجة الجينية.

يمكن للطفرات في الإكسونات، أو في المناطق المنظمة لجين ما يرمز إنزيماً ما في تقويض الأحماض الأمينية، أن تؤدي لظهور إنزيم غير وظيفي، أو إلى إخفاق تام بتخليق ذلك الإنزيم. وحيث أن بعض التغيرات في البنى الأولية للإنزيمات قد يكون لها تأثير بسيط، فإن بعضها الآخر يعدل البنية ثلاثية الأبعاد للمواضع التحفيزية أو التنظيمية. وقد يمتلك الإنزيم المعدل أو الطافر فعالية تحفيزية متبدلة (V_{max} منخفضة، أو K_m مرتفعة)، أو تتغير القدرة على ربط المنظم التفارغي لفعاليته التحفيزية. وقد تسبب الطفرات المختلفة الأعراض السريرية نفسها. فعلى سبيل المثال، تؤدي أية طفرة تخفض بشكل كبير الفعالية التحفيزية للأرجينينو سكسيناز إلى اضطراب أيضي يعرف باحمضاض الدم بالأرجينينو سكسينيك.

إلا أنه ليست كل حالات هذا الاضطراب تمثل طفرات في الموضع الجيني نفسه. لذلك تكون هذه الحالات على المستوى الجزيئي أمراضاً جزيئية واضحة.

تتقوض الأحماض الأمينية إلى ركائز لأجل التخليق الحيوي للسكريات والشحميات:

إن الدراسات التغذوية التي جرت في الفترة الواقعة بين 1920-1940، والمدعومة بالدراسات التي استعملت الأحماض الأمينية الموسومة بالنظائر، والمجراة بين الأعوام 1940 إلى 1950، هي التي أثبتت قابلية التحول البيني لذرات كربون الدهون

والسكريات والبروتينات، وأظهرت أن كل الهيكل الكربوني أو قسماً منه لكل حمض أميني قابل للتحول إما إلى سكريات (13 حمضاً أمينياً)، أو لدهون (حمض أميني واحد)، أو لكليهما (خمسة أحماض أمينية)، (الجدول 32-1). ويبين (الشكل 32-1) المظاهر العامة لهذه التحولات البينية.

المتحولة إلى متوسطات تشكل:			
الجليكوجين (مكونة للسكر)		الدهن (مكونة للكيتون)	الجليكوجين والدهن (مكونة للسكر وللكيتون)
Ala	Hyp	Leu	Ile
Arg	Met		Lys
Asp	Pro		Phe
Cys	Ser		Trp
Glu	Thr		Tyr
Gly	Val		
His			

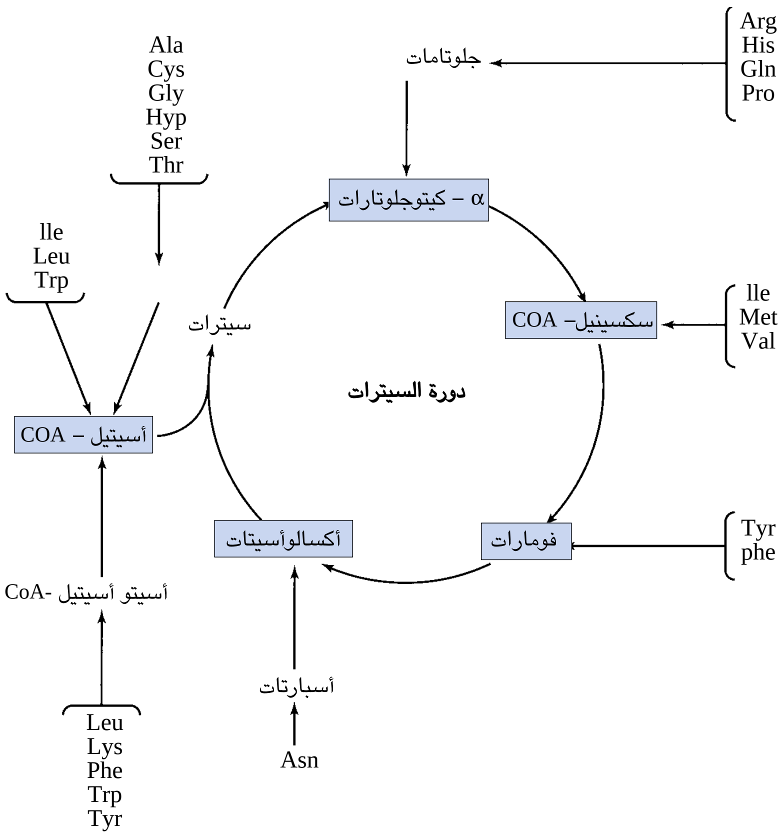
الجدول 32-1 : مصائر الهياكل الكربونية للأحماض الأمينية -L-α الشائعة.

التفاعل الأولي هو نزع الزمرة الأمينية α عادة :

إن نزع النتروجين الأميني – α عن طريق نزع الأمين هو بشكل عام التفاعل التقويضي الأول. وتكون ناقلتا أمين البيروفات و α– كيتوجلوتارات غير نوعيتين نسبياً، حيث يشارك فيها الحمض الأميني كركيزة، لذلك فهما تعملان على العديد من الأحماض الأمينية. إلا أن ذلك لا ينطبق على حالة البرولين أو هيدروكسي البرولين أو الثريونين أو الليسين. ويتوقف مصير النتروجين المتحرر على الحاجة الفيزيولوجية؛ فإما أن يعاد استعماله لعمليات ابتنائية مثل تخليق البروتينات، أو يتحول إلى يوريا ويفرغ. يمكن للهيكل الهيدروكربوني المتبقي المؤكسد جزئياً أن يتدرك بعد ذلك إلى متوسطات متقالبة.

الأسبارجين والأسبارتات يشكلان الأكسالوأسيتات:

تشكل جميع ذرات الكربون الأربعة الموجودة في الأسبارجين وبالأسبارتات الأكسالوأسيتات عن طريق تفاعلات متتالية تحفرها الأسبارجيناز وناقلة أمين (الشكل 32-2، في الأعلى). ربما لأن العيوب في ناقلات الأمين، التي تنجز وظائف متقالبة أساسية، قد تكون غير متوافقة مع الحياة، فإنه لا يوجد عيب أيضي معروف يترافق مع هذا السبيل التقويضي القصير.



الشكل 32-1 : المتوسطات المتقالبة المتشكلة من الهياكل الكربونية للأحماض الأمينية.

الجلوتامين والجلوتامات يشكلان α ـ كيتو جلوتارات:

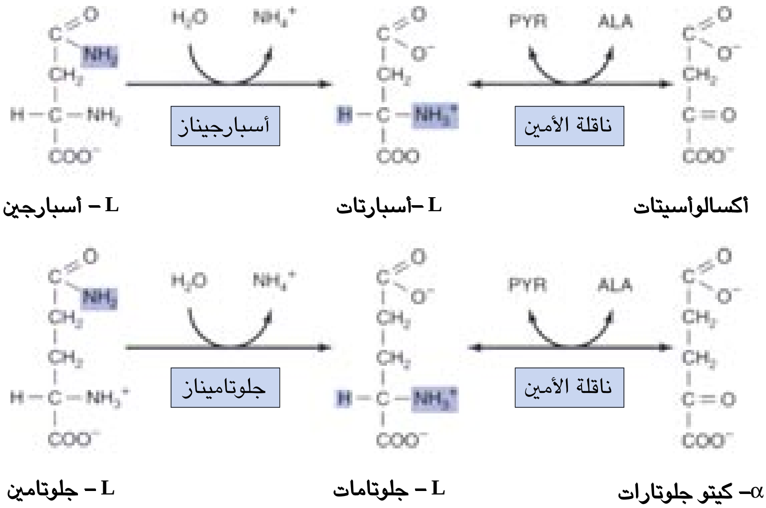
يتوازى تقويض الجلوتامين والجلوتامات مع تقويض الأسبارجين والأسبارتات، لكنه يشكل – α كيتو جلوتارات (الشكل 32-2، في الأسفل). ونظراً لأن كلا من الجلوتامات والأسبارتات هما ركيزتان لناقلة الأمين نفسها، فإن نزع أميد الجلوتامين يحفز بالجلوتاميناز (Glutaminase). ولا توجد عيوب أيضية معروفة في سبيل تقويض جلوتامين ـ جلوتامات، غالباً للسبب المذكور في الفقرة السابقة.

يشكل البرولين – α كيتو جلوتارات:

يتأكسد البرولين، أكثر من أن يخضع لنقل أمين مباشر، إلى البرولين منزوع الهيدروجين، ويضيف هذا الأخير الماء مشكلاً جلوتامات –γ– نصف ألدهيد، ثم يؤكسد هذا إلى الجلوتامات، وينقل أمينه إلى α– كيتو جلوتارات (الشكل 32-3، يساراً). وقد وصفت حالتان من فرط برولين الدم بكروموسوم جسدي متنح. ويحدث التخلف العقلي في نصف الحالات المعروفة، لكن لا يكون أي نمط مهدداً للحياة.

1– فرط برولين الدم (Hyperprolinemia) من النمط I: يكون الإحصار الأيضي في هذه الحالة عند نازعة هيدروجين البرولين (الشكل 32-3). ويبدي متغايرو الزيجوت من النمط -I فرطاً معتدلاً فقط في برولين الدم. ولا يوجد اضطراب مرتبط بتقويض هيدروكسي البرولين.

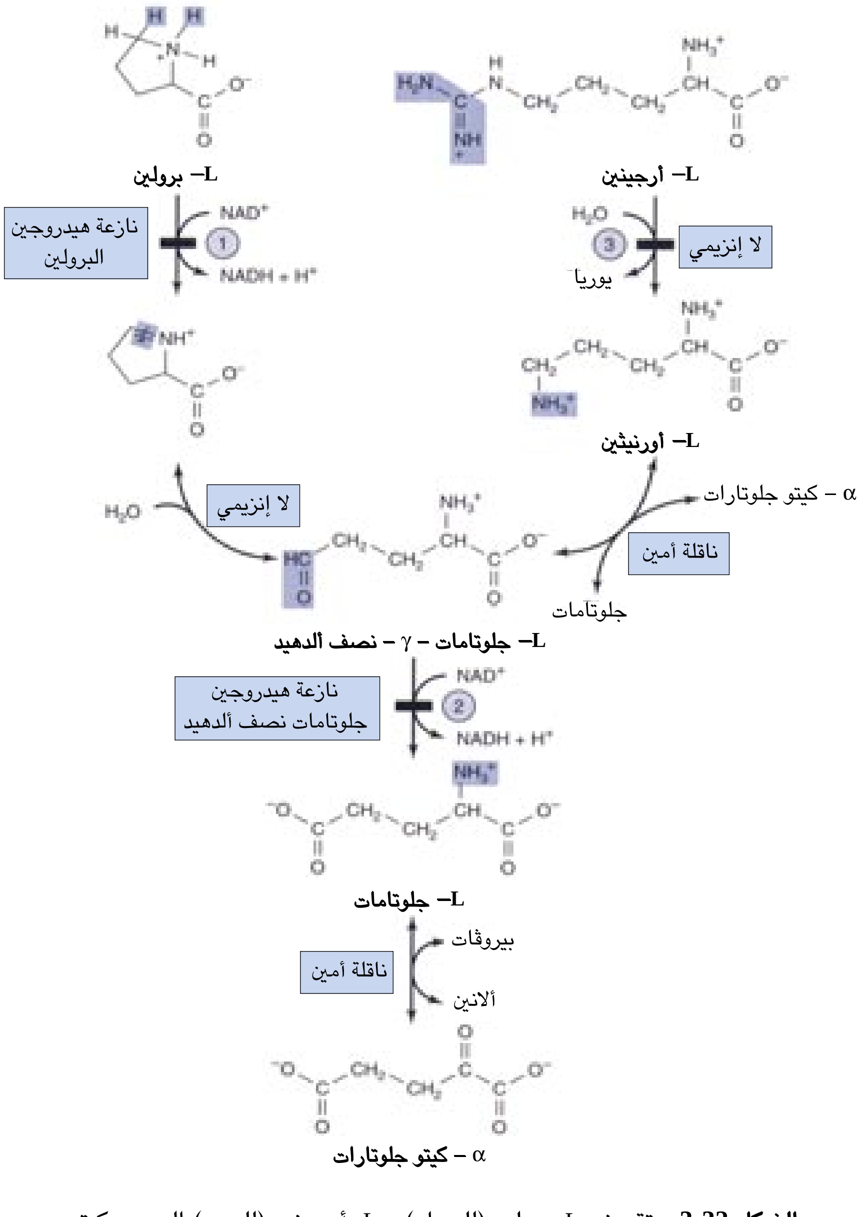
2 – فرط برولين الدم من النمط II: يحدث الإحصار الأيضي هنا عند نازعة هيدروجين الجلوتامات –γ نصف الألدهيد (الشكل 32-3). ولأن نازعة الهيدروجين ذاتها تقوم بوظيفتها في تقويض هيدروكسي البرولين (التفاعل 2، الشكل 32-12)، فإن تقويض كل من البرولين وهيدروكسي البرولين يتأثر. ويحوي البول على مقوض (Catabolite) ـ هيدروكسي البرولين؛ (Δ^1 – بيرولين –3– هيدروكسي –5– كربوكسيلات (الشكل 32-12). وخلافاً لمتغايري زيجوت النمط I، لا يبدي متغايرو زيجوت النمط II فرطاً في برولين الدم.



الشكل 32-2 : تقويض L- أسبارجين (في الأعلى) و L- جلوتامين (في الأسفل) إلى متوسطات متقالبة. (PYR: بيروڤات؛ ALA: L- ألانين.) إن الأجزاء الملونة من الجزيئات في هذا الشكل وفي الأشكال التالية هي التي تخضع للتبدل الكيميائي.

الأرجينين والأورنيثين يشكلان α- كيتوجلوتارات:

يتشكل α– كيتوجلوتارات من تقويض الحمض الأميني سداسي الكربون، الأرجينين. ويجري أولاً نزع ذرة الكربون وذرات النتروجين الثلاثة بالانشطار الحلمهي لزمرة الجواندينو، ويحفز هذا التفاعل بالأرجيناز ويتشكل الأورنيثين. ثم يخضع الأورنيتين لنقل أمين زمرته الأمينية – 5 مشكلاً الجلوتامات –γ– نصف الألدهيد، الذي يشكل α– كيتوجلوتارات، كما هو موصوف أعلاه في تقويض البرولين (الشكل 32-3). يوجد اضطرابان وراثيان يؤديان إلى فرط أورنيثين الدم.



الشكل 32-3 : تقويض L- برولين (لليسار) و L- أرجينين (لليمين) إلى α– كيتو جلوتارات. تشير الأرقام إلى مواقع العيوب الأيضية في (1). فرط برولين الدم من النمط I؛ و (2)، فرط برولين الدم من النمط II؛ و (3). فرط أرجينين الدم (الفصل 31).

1– ضمور الشبكية ذو التلافيف (Gyrate atrophy of the Retina): تتضمن خلة الصبغي الجسدي المتنحي الوراثية هذه تنكساً مشيمائياً شبكياً، مع ضياع تدريجي بالرؤية المحيطية ورؤية ظلامية (مبهمة) ثم العمى في نهاية الأمر. وتكون مستويات الأورنيثين في البلازما مرتفعة، ويفرغ 1-10 ممول منه يومياً. أما العيب فهو في ناقلة أمين δ– الأورنيثين. وقد جرى سلسلة ناقلة الأمين عند الإنسان وتحديد أكثر من 50 طفرة مسؤولة عن الضمور ذي التلافيف. تتضمن المعالجة الحد من الأرجينين في الغذاء.

2 – متلازمة فرط أورنيثين الدم – فرط أمونيا الدم: يبدو أن هذا الاضطراب الوراثي المتنحي المتميز بارتفاع مستويات الأورنيثين والأمونيا في الدم، ينتج عن خلل في نقل الأورنيثين للمتقدرات. وتكون النتيجة اضطراب التخليق الحيوي لليوريا، مع فرط أمونيا الدم (الفصل 30) وفرط أورنيثين الدم نتيجة لذلك. ونظراً لأن العيب يشمل، على الأرجح، تنادلاً للزوج أورنيثين ـ سيترولين الذي يماثل ذلك الذي تمت تنقيته من محضرات متقدرات كبد الجرذ، فإنه يمكن أن ينظر إلى هذه المتلازمة على أنها عيب في دورة اليوريا أيضاً.

يشكل الهيستيدين α ـ كيتوجلوتارات :

ينتج عن نزع أمين الهيستيدين بتحفيز الهيستيداز (Histidase) مركب اليوروكانات (الشكل 32-4). وتؤدي إضافة H_2O، مع إرجاع تأكسدي داخلي بتحفيز اليوروكاناز (Urocanase)، إلى تحويل اليوروكانات إلى 4– إيميدازولون –5– بروبيونات، الذي تؤدي حلمهته لتشكيل N– فورميمينو جلوتامات (فيجلو Figlu). ويتشكل الجلوتامات بنتيجة النقل التالي لزمرة الفورميمينو من الفيجلو إلى رباعي هيدرو الفولات. ويكون هذا التفاعل في عوز حمض الفوليك معرقلاً جزئياً أو كلياً، ويفرغ الفيجلو في البول. لذلك فإن إفراغ الفيجلو بعد أخذ جرعة اختبارية من الهيستيدين يوفر اختباراً تشخيصياً لعوز حمض الفوليك. ثم يؤدي نقل أمين الجلوتامات إلى تشكيل α– كيتوجلوتارات، وحيث أن زيادة كبيرة في إفراغ

الهيستيدين تشير إلى الحمل السوي، فإن هذا يعكس وجود تبدل مؤقت في الوظيفة الكلوية.

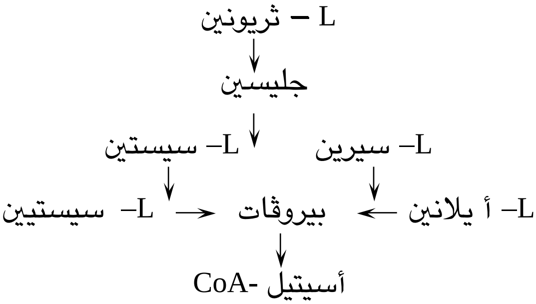
هناك اضطرابان حميدان معروفان بشكل واضح في تقويض الهيستيدين:

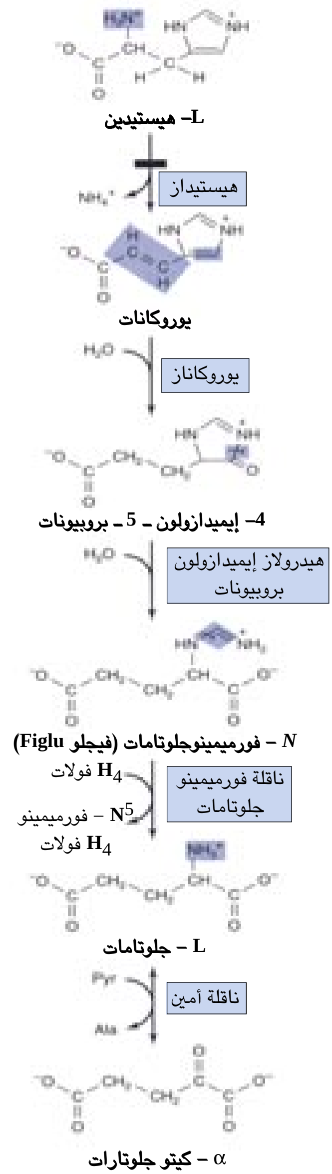
1– وجود الهيستيدين في الدم (Histidinemia): أظهر استقصاء أكثر من 20 مليون من الولدان وجود نسبة مرتفعة من الإصابات بهذه الحالة بنسبة (1) لكل (11,500). وهي تتميز بارتفاع مستوى الهيستيدين في الدم والبول، وهي متلازمة حميدة عند معظم الأفراد. ويكون الإنزيم المعيب هو الهيستيداز، مما يؤدي إلى اضطراب في تحويل الهيستيدين إلى اليوروكانات.

2– بيلة حمض اليوروكانيك (Urocanic Aciduria): ينتج ازدياد إفراغ اليوروكانات في هذا الاضطراب المرتبط بوضوح بصبغي جسدي متنح، عن عيب في اليوروكاناز (الشكل 32-4). وتكون زيادة إفراغ حمض اليوروكانيك هي العلامة الوحيدة لهذا الاضطراب الحميد تماماً.

هناك ستة أحماض أمينية تشكل البيروڤات:

إن جميع ذرات كربون الجليسين والألانين والسيستيين والسيرين ـ لكن اثنين فقط من كربونات الثريونين ـ تشكل البيروڤات. لذلك يمكن للبيروڤات أن يتحول بعد ذلك إلى أسيتيل -CoA.





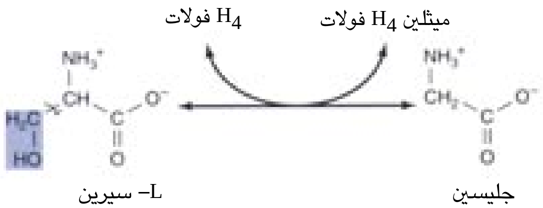
الشكل 4-32 : تقويض L – هيستيدين إلى α– كيتو جلوتارات. (H_4 فولات: رباعي هيدروفولات.) يحفز التفاعل بالهيستيداز الذي يمثل الموضع المحتمل للعيب الأيضي في حالة وجود الهيستيدين في الدم.

يبدأ تقويض الجليسين عن طريق انشطار الجليسين:

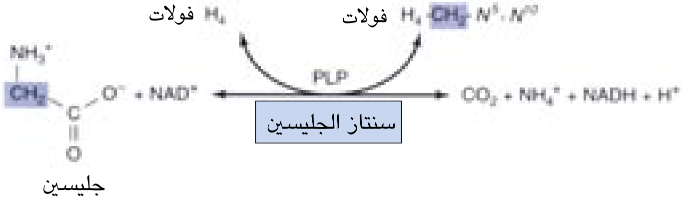
بما أن الجليسين يمكن أن يشكل البيروڤات أيضاً عن طريق التحول الأولي إلى السيرين (الشكل 32-5)، فإن انشطار الجليسين يشكل على الأرجح (الشكل 32-6)الطريق الرئيسي لتقويض الجليسين والسيرين عند الإنسان والعديد من الفقاريات الأخرى. ويقوم معقد سنتاز الجليسين، وهو معقد إنزيمي كبير الجزيء في المتقدرات الكبدية، بشطر الجليسين إلى CO_2 وNH_4^+ ، ويشكل N^{10} . N^5 - ميثيلين رباعي هيدرو الفولات بتفاعل عكسي (الشكل 32-6).

1– بيلة الجليسين (Glycinuria): تتميز هذه الحالة بإفراغ 0.6-1 جرام من الجليسين في البول يومياً، وتميل نحو تشكيل حصيات كلوية من الأكسالات. وبما أن مستويات الجليسين في البلازما تكون سوية، فإن بيلة الجليسين تنجم على الأغلب عن عيب في عود الامتصاص بالنبيبات الكلوية.

2 – فرط أكسالات البول الأولية: لا يتعلق الإفراغ البولي للأكسالات في هذه الحالة بالمدخول الغذائي من الأكسالات. وتنشأ الأكسالات بوضوح من نزع أمين الجليسين، فيتشكل الجليوكسيلات (نصف الألدهيد للأكسالات، انظر الشكل 32-12). ويتضمن العيب الأيضي إخفاقاً في تقويض الجليوكسيلات التي تتأكسد بالتالي إلى أكسالات. وبعد التحصي البولي المتدرج ثنائي الجانب بأكسالات الكلسيوم والكلاس الكلوي والعدوى الناكسة في السبيل البولي تحدث وفاة مبكرة، بسبب الفشل الكلوي أو فرط ضغط الدم.



الشكل 32-5 : تفاعل ناقلة هيدروكسي ميثيل السيرين العكسي تماماً. (H_4 فولات: رباعي هيدروفولات).



الشكل 32-6 : انشطار الجليسين العكسي بوساطة معقد سنتاز الجليسين المتقدري (PLP: بيريدوكسال فسفات).

الألانين يشكل البيروڤات:

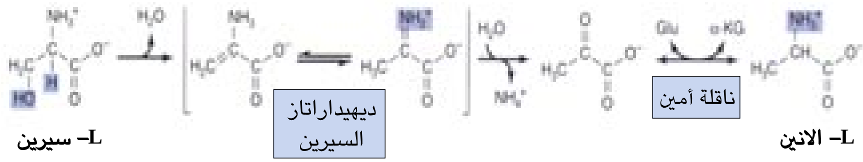
تتشكل البيروڤات من نقل أمين –α ألانين (الشكل 32-7 لليمين)، ثم يمكن أن ينزع الكربوكسيل من البيروڤات ليتشكل الأسيتيل -CoA. وربما للأسباب ذاتها التي وردت تحت عنوان تقويض الجلوتامات والأسبارتات، فإنه لا يوجد عيب أيضي معروف في تقويض –α ألانين.

يتقوض السيرين عن طريق الجليسين:

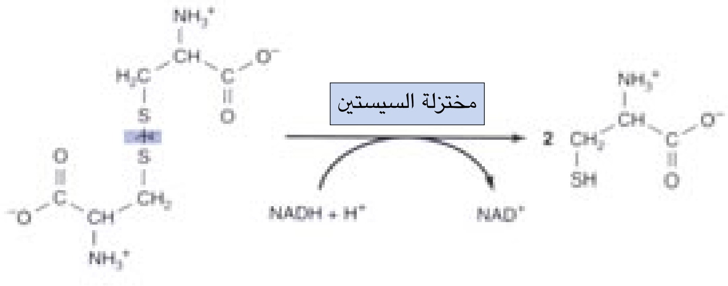
يقوم الإنسان والعديد من الفقاريات الأخرى بتدرك السيرين بشكل رئيسي إلى جليسين و N^5، N^{10} – ميتيلين رباعي هيدرو الفولات. وبعد هذا التفاعل المحفّز بناقلة هيدروكسي ميتيل السيرين (الشكل 32-5)، يندمج تقويض السيرين مع تقويض الجليسين (الشكل 32-6). وخلافاً لذلك: يحول الكبد عند القوارض السيرين إلى بيروڤات بتوسط ديهيدراتاز السيرين، وهو بروتين البيريدوكسال فسفات عن طريق خسارة الماء، الذي يليه خسارة الأمونيا بالحلمهة (الشكل 32-7).

يقوم ردكتاز السيستين بإرجاع السيستين إلى سيستيين.

إن المصير التقويضي الرئيسي للسيستين عند الثدييات هو التحول إلى سيستيين، ويتحفز هذا التفاعل بمختزلة السيستيين (الشكل 32-8) ثم يندمج تقويض السيستين بتقويض السيستيين.



الشكل 32-7 : تحول الألانين والسيرين إلى البيروڤات. تحتاج تفاعلات ناقلة أمين الألانين ودهيدراتاز السيرين للبيريدوكسال فسفات. يتواصل تفاعل ديهيدراتاز السيرين عن طريق حذف الماء من السيرين فيتشكل حمض أميني غير مشبع. ويعاد ترتيب هذا الأخير إلى حمض إيمينو α– الذي يتحلمه تلقائياً إلى البيروڤات والأمونيا. (GLu: جلوتامات؛ KG: α–α كيتو جلوتارات).



الشكل 32-8 : تفاعل مختزلة السيستين.

هناك سبيلان يحولان السيستيين إلى بيروفات:

يتقوض السيستيين بسبيلين تقويضيين: (1): السبيل التأكسدي المباشر (سولفينات السيستين). و (2): سبيل نقل الأمين (3– مِرْكَبْتو بيروفات). ويحفز تحول السيستين إلى سولفينات السيستيين (الشكل 32-9 لليسار) بوساطة ثنائي أكسيجينار السيستيين (Cysteine dioxygenase)، وهو إنزيم يحتاج لـ Fe^{+2} و NAD(P)H. ويتضمن التقويض الإضافي لسولفينات السيستيين على الأرجح نقل أمينه إلى β– سولفينيل البيروفات. ويجري تحول β – سولفينيل البيروفات إلى بيروفات وسولفيت بتحفيز نازع الكبريت أو ديسولفيناز (Desulfinase). حتى بغياب التحفيز الإنزيمي.

يشكل نقل أمين السيستيين 3– مركبتو بيروفات :

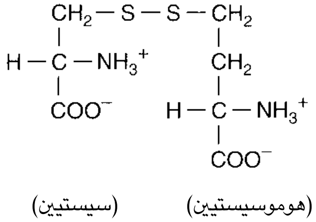
يحفز نقل الأمين العكسي للسيستيين إلى 3– مركبتو بيروفات (ثيول بيروفات) بوساطة ناقلات أمين نوعية للسيستيين، أو عن طريق ناقلات أمين الجلوتامات أو الأسبارجين في الكبد والكلية عند الثدييات (الشكل 32-9، لليمين)، وبإرجاع 3– مركبتو بيروفات بنازعة هيدروجين L– لاكتات يتشكل 3– مركبتو لاكتات، الموجود في بول الإنسان السوي بشكل مركبه ثنائي السلفيد المختلط مع السيستيين، وهو يفرغ بكمية كبيرة عند المرضى المصابين ببيلة ثنائي سلفيد مركبتو لاكتات ـ سيستيين. ويخضع 3– مركبتو بيروفات في طريق بديل لنزع السلفيد، فتتشكل البيروفات و H_2S (الشكل 32-9، لليمين). ويلخص (الجدول 32-2) العيوب المعروفة في تقويض الأحماض الأمينية التي تحوي الكبريت، وتشمل هذه العيوب ما يلي:

1– **بيلة السيستين (بيلة السيستين ـ ليزين):** يتميز هذا الداء الأيضي الوراثي بإفراغ السيستين في البول بكمية أكبر من السوي بنحو 30 ضعفاً. ويجري كذلك إفراغ الليسين والأرجينين والأورنيثين، مما يفترض وجود عيب في آليات عود الامتصاص الكلوي لهذه الأحماض الأمينية الأربعة. لذلك يمكن أن يكون اسم بيلة السيستين ـ الليسين هو الأفضل. ونظراً لأن السيستين غير ذواب نسبياً، فإنه تتشكل حصيات السيستين في النبيبات الكلوية عند المصابين ببيلة السيستين.

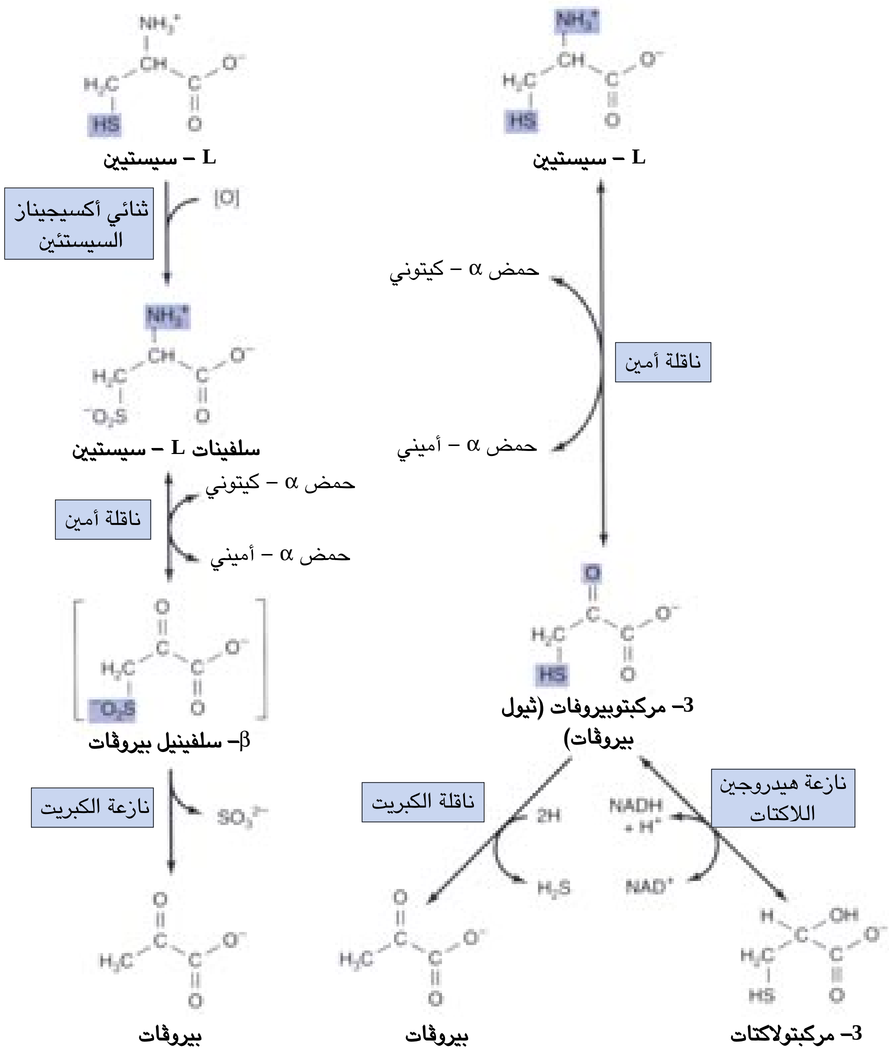
وبشكل أو بآخر، فإن بيلة السيستين هي شذوذ حميد. ويوجد ثنائي السلفيد المختلط لكل من L– سيستيين و L – هوموسيستيين (الشكل 32-10) في بول المصابين ببيلة السيستين، يكون أكثر ذوباناً من السيستين، ولهذا فهو ينقص تشكيل بلورات السيستين والحصيات.

2– **الداء السيستيني (داء اختزان السيستين):** الداء السيستيني اضطراب نادر في الجسيمات الحالة، يتميز بعيب في نقل السيستين المتواسط بالحامل. وتتوضع (تترسب) بلورات السيستين في الأنسجة والأعضاء، بخاصة في الجملة الشبكية البطانية. ويترافق الداء السيستيني عادة ببيلة أحماض أمينية عامة. وتتضرر أيضاً وظائف كلوية أخرى بشكل خطير، ويموت المرضى عادة في سن الشباب بسبب الفشل الكلوي الحاد.

3– **بيلات الهوموسيستين:** يجري في هذه العيوب الوراثية بتقويض الميثيونين (معدل الإصابة هو 1 تقريباً من كل 160,000 ولادة) إفراغ نحو 300 مجم من الهوموسيستين في البول يومياً، مع S– أدينوزيل الميثيونين أحياناً. وترتفع كذلك مستويات الميثيونين في البلازما. وهناك أربعة عيوب أيضية على الأقل تسبب بيلة الهوموسيستين (الجدول 32-2). ففي النمط الأول من بيلة الهوموسيستين، تتضمن الموجودات السريرية كلاً من الخثار وتخلخل العظام (Osteoporosis) وانخلاع العدسات في العينين، وفي أحيان كثيرة التخلف العقلي. ومن المعروف وجود شكلين؛ الذي يستجيب للڤيتامين B_6 والذي لا يستجيب له. ويمنع الغذاء الفقير بالميثيونين والغني بالسيستين حدوث تبدلات مرضية فيما إذا بدئ به بشكل مبكر من العمر. أما الأنماط الأخرى من بيلة الهوموسيستين فتعكس وجود عيوب في دورة إعادة المثيلة (الجدول 32-2).



الشكل 32-10: ثنائي سلفيد مختلط من السيستيين والهوموسيستيين.



الشكل 32-9 : تقويض L– سيستيين في السبيل التأكسدي المباشر (سلفينات السيستيين) (لليسار) وبوساطة سبيل نقل الأمين (3– مركبتو بيروڤات) (لليمين). يعد β– سلفينيل بيروڤات متوسطاً افتراضياً. يجري تحفيز أكسدة السلفيت المنتجة في التفاعل الأخير من السبيل التأكسدي المباشر إلى السلفات بوساطة أكسيداز السلفيت.

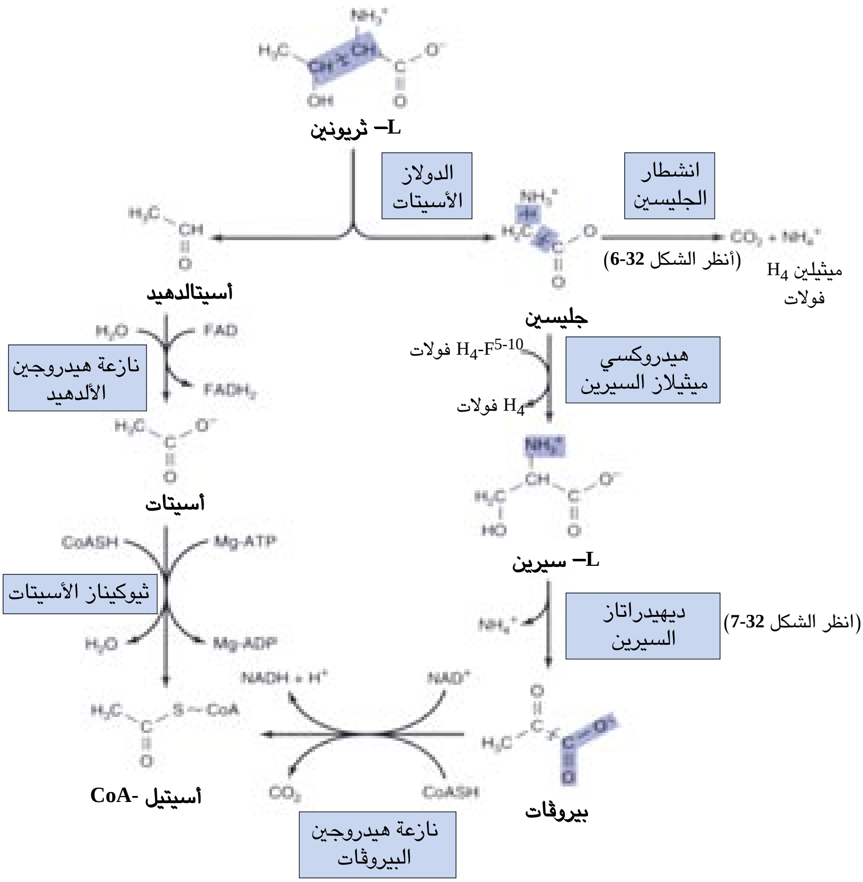
الاسم	العيب	المرجع
بيلة الهوموسيستين I	سنتاز– β السيستاتيونين	
بيلة الهوموسيستين II	مختزلة N^5 ، N^{10}– ميثيلين رباعي هيدرو الفولات	
بيلة الهوموسيستين III	نقص ناقلة ميثيل N^5 – ميثيل رباعي هيدرو الفولات– هوموسيستين/ بسبب عدم القدرة على تخليق ميثيل الكوبالامين	
بيلة الهوموسيستين IV	نقص ناقلة ميثيل N^5– ميثيل رباعي هيدرو الفولات– هوموسيستين بسبب عيب بالامتصاص المعوي للكوبالامين	
فرط ميثيونين الدم	ناقلة أدينوزيل الميثيونين الكبدية(*)	الشكل 32-22
بيلة السيستاتيونين	السيستاثيوناز	
بيلة السولفيت (بيلة السلفوسيستيين)	أكسيداز السولفيت	الشكل 32-9، التفسير
الداء السيستيني	عيب في وظيفة الجسيمات الحالة	
بيلة ثنائي سلفيد 3–مركبتو بيروڤات ـ سيستيين	ناقلة سلفوز 3– مركبتو بيروڤات	الشكل 32-9
متلازمة سوء امتصاص الميثيونين	عدم القدرة على امتصاص الميثيونين من المعى	

الجدول 32-2 : الأخطاء الولادية في أيض الأحماض الأمينية التي تحوي السلفور

(*) يمكن أن تحدث أيضاً في بيلة السيستاتيونين وفي وجود التيروزين في الدم ولاتحمل الفركتوز (Fructose intolerance).

يستهل ألدولاز الثريونين تقويض الثريونين:

ينشطر الثريونين إلى أسيتالدهيد وجليسين بوساطة ألدولاز الثريونين؛ ثم يؤكسد الأسيتالدهيد إلى أسيتات، التي تتحول بعد ذلك إلى أسيتيل ـ CoA (الشكل 32-11). وقد نوقش تقويض الجليسين سابقاً.



الشكل 32-11 :تحول الثريونين والجليسين إلى سيرين وبيروفات وأسيتيل –CoA
($f^{5-10}H_4$ فولات: حمض فورميل [5-10] رباعي هيدروفوليك).

يشكل 4 – هيدروكسي البرولين البيروفات والجليوكسيلات:

تؤكسد نازعة هيدروجين متقدرية 4 – هيدروكسي ـ L ـ البرولين إلى L– Δ^1– بيرولين ـ3 ـ هيدروكسي ـ5 ـ كربوكسيلات، الذي يكون في توازن لا إنزيمي مع γ– هيدروكسي –L– جلوتامات –γ– نصف ألدهيد (الشكل 32-12)، ويتأكسد هذا

بدوره إلى إريثرو γ − هيدروكسي ـ L ـ جلوتامات، ثم ينقل أمينه إلى α− كيتو −γ− هيـدروكـسـي −جلوتارات. ويلي ذلك انشطار من النمط «ألدول» فـي تـشكل الجليوكسيلات مع البيروڤات. يكون موقع العيب الأيضي في فرط هيدروكسي برولين الدم ـ و هو خلة كروموسومية جسدية متنحية ـ في نازعة هيدروجين 4 ـ هيدروكسي برولين (الشكل 32-12).

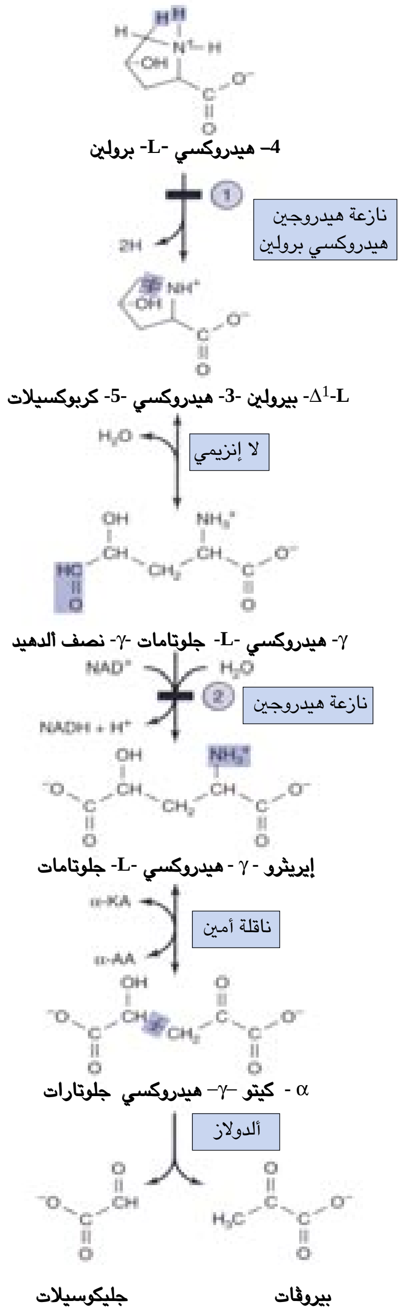
ويتميز الاضطراب بمستويات بلازمية مرتفعة من 4− هيدروكسي البرولين. ولايوجد هنا خلل مرافق في تقويض البرولين، لأن الإنزيم المتأثر يعمل فقط في تقويض هيدروكسي البرولين. وليس لهذه الحالة تأثير في أيض الكولاجين، ومن الواضح أنها، على غرار فرط برولين الدم، حالة حميدة.

هناك اثنا عشر حمضاً أمينياً تشكل أسيتيل CoA:

إن جميع الأحماض الأمينية التي تشكل البيروڤات (ألانين وسيستيين وسيستين وجليسين وهيدروكسي البرولين وسيرين وثريونين) تشكل أيضاً أسيتيل ـ CoA عن طريق نازعة هيدروجين البيروڤات (الفصل 19). وإضافة إلى ذلك، يشكل الفينيل ألانين والتيروزين والتربتوڤان والليسين واللوسين الأسيتيل ـ CoA دون تشكيل البيروڤات أولاً.

1− يشكل نقل أمين التيروزين P− هيدروكسي فينيل بيروڤات: يحفز نقل أمين التيروزين إلى P− هيدروكسي فينيل بيروڤات بناقلة أمين التيروزين − α − كيتو جلوتارات، وهو إنزيم قابل للتحريض في كبد الثدييات.

2 − يشكل P− هيدروكسي فينيل بيروڤات الهوموجنتيسات: يتضمن هذا التفاعل غير العادي (الشكل 32-13) هدركسلة (ضم هيدروكسيل) متناسقة للحلقة وتغير موضع السلسة الجانبية، ونظراً لأن المرجع الفيزيولوجي هو الأسكوربات، فإن المصابين بالبثع لا يؤكسدون نواتج التيروزين بشكل كامل. وقد تم في البداية تحديد عدة متوسطات بأيض التيروزين عن طريق الإطعام بالطلائع المشبوهة للهوموجنتيسات لمرضى يعانون من البيلة الألكبتونية (Alkaptonuria) (انظر فيما بعد)، وتبين فيما بعد أنهم يفرزون الهوموجنتيسات.



الشكل 32-12 : المتوسطات في تقويض L- هيدروكسي البرولين. (α -KA: حمض α– كيتوني؛ α -AA:حمض α – أميني). تدل الأرقام على مواقع العيوب الأيضية في 1– فرط هيدروكسي برولين الدم و 2– فرط برولين الدم من النمط II.

3 – يفتح أكسيداز الهوموجنتيسات الحلقة العطرية (الأروماتية): يؤدي التمزيق التأكسدي لحلقة البنزن في الهوموجنتيسات، بتحفيز أكسيداز الهوموجنتيسات في كبد الثدييات، إلى تشكيل الماليئيل أسيتو أسيتات.

4 – تشكل المصاوغة المقرونة ـ المفروقة فوماريل الأسيتو أسيتات: تؤدي مصاوغة المالييل أسيتوأسيتات، بتحفيز إيزوميراز مالييل أسيتو أسيتات المفروق ـ المقرون، إلى تشكيل فوماريل أسيتو الأسيتات.

5 – تشكل حلمهة الفوماريل أسيتو أسيتات كلاً من الفورمارات والأسيتو أسيتات: تؤدي حلمهة الفوماريل أسيتو أسيتات بوساطة هيدرولاز الفوماريل أسيتوأسيتات إلى تشكيل الفومارات والأسيتو أسيتات. ثم يمكن للأسيتو أسيتات أن يشكل أسيتيل -CoA مع الأسيتات، عن طريق تفاعل محفز بـ β – كيتوثيولاز (β–Ketothiolase) (انظر الفصل 24).

فرط تيروزين الدم والبيلة التيروزينية والبيلة الكيتونية:

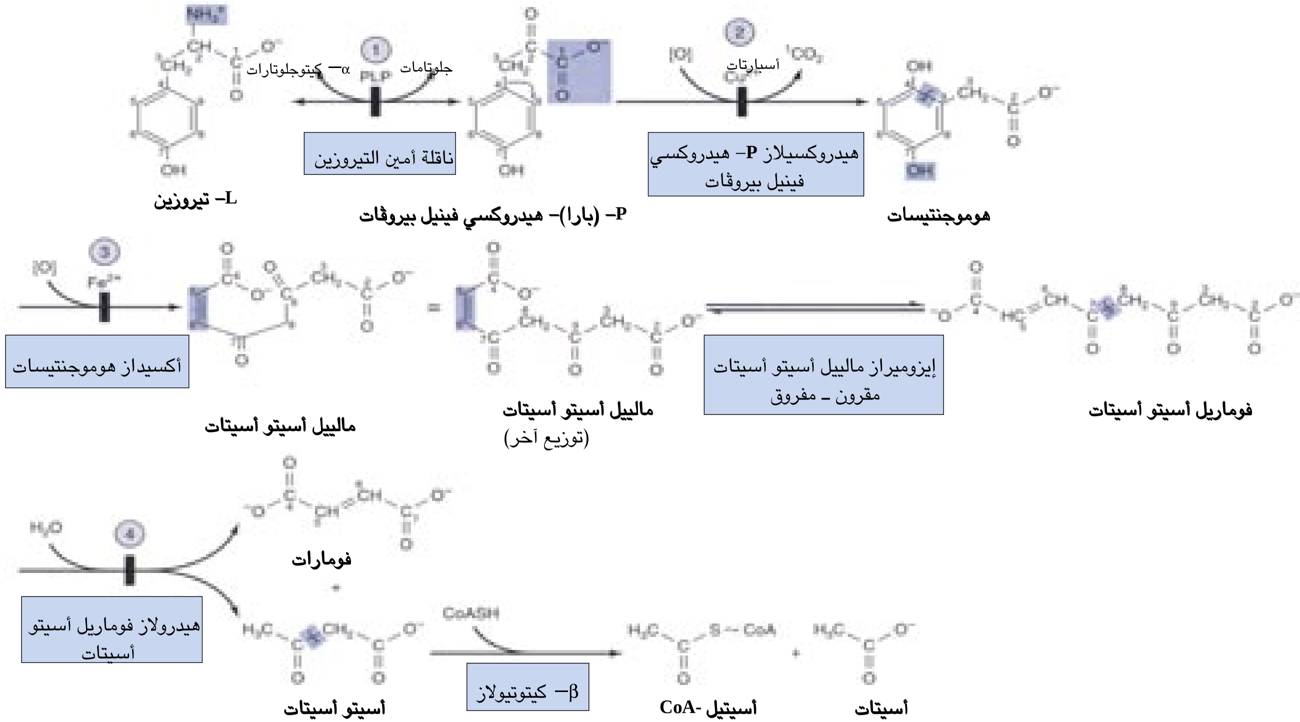
1– فرط تيروزين الدم (Tyrosinemia) من النمط I (الداء التيروزيني Tyrosinosis): الفيزيولوجية المرضية للداء التيروزيني معقدة، لأن المستقلبات المتراكمة تؤثر في فعاليات عدة إنزيمات وجمل ناقلة. والعيب الأيضي المحتمل هو في هيدرولاز الفوماريل أسيتو أسيتات (التفاعل 4، الشكل 32-13).

وتكون مستويات التيروزين في البلازما مرتفعة (6-12 مجم/100مل) مثل مستويات الميثيونين. ويبدي الأطفال المصابين في الداء التيروزيني الحاد إسهالاً وقياء ورائحة شبيهة بالملفوف، وإخفاقاً في النمو. وفي حال عدم العلاج تحدث الوفاة بسبب الفشل الكبدي خلال 6-8 شهور. أما في فرط تيروزين الدم المزمن، مع أن الأعراض متشابهة لكنها أخف، فيحدث الموت بشكل عام بعمر 10 سنوات. وترتكز المعالجة على غذاء فقير بالتيروزين والفينيل ألانين، وفي حالات معينة فقير بالميثيونين أيضاً.

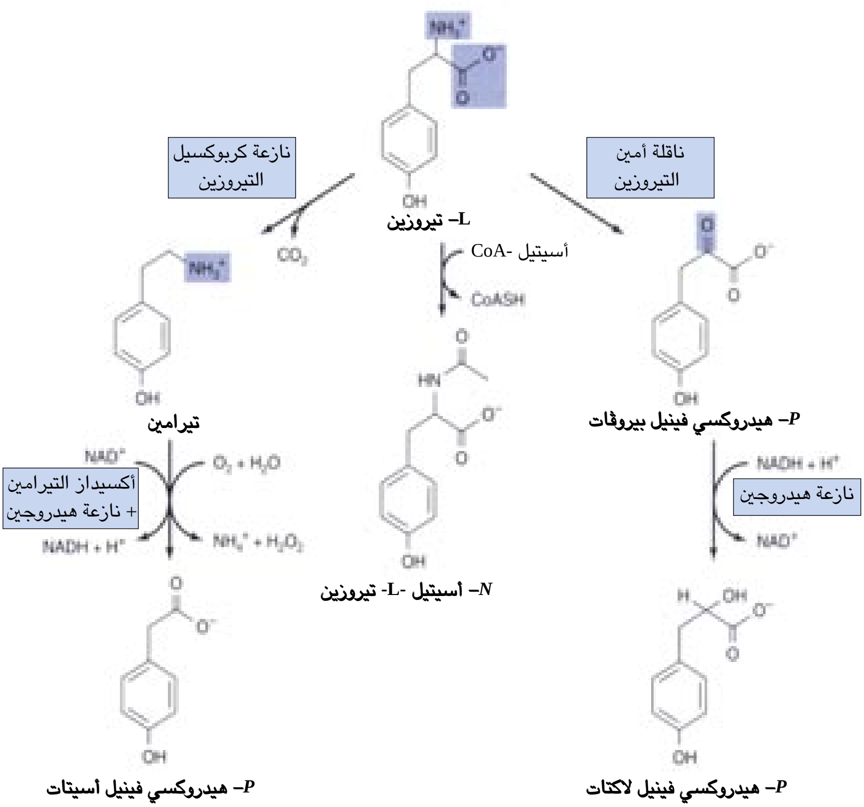
2 – فـــرط تيـــروزين الدم من النمط II (مـــتـــلازمـــة رايخنر ـ هانهـــرت. Richner-Hanhart syndrome): إن الموقع المحـتـمل للعـيب الأيضـي في فـرط تيـروزين الدم من النمط II هو ناقلة أمين التيـروزين الكبـدية (التـفـاعل 1، الشكل 32-13). وتتضـمن الموجودات السـريرية ارتفاع مستويات التيروزين في البلازما (4-5 مجم/ 100مل) وآفات عينية وجلدية وتخلفاً عقلياً معتدلاً. ويعد التيروزين الحمض الأميني الوحيد الذي يكون تركيزه مرتفعاً في البول؛ إلا أن التصفية الكلوية للتيروزين وإعادة امتصاصه في الكلية تقع ضمن الحدود السوية. وتضم نواتج الأيضية البولية كلاً من P – هيدروكسي فينيل بيروفات، و P – هيدروكسي فينيل لاكتات، و P– هيدروكسي فينيل أسيتات وN– أسيتيل التيروزين والتيرامين (الشكل 32-14).

3 – فرط تيروزين الدم عند الولدان: يعتقد أن هذا الاضطراب ناجم عن عوز نسبي في هيدروكسيلاز P– هيدروكسي فينيل البيروفات (التفاعل 2، الشكل 32-13). وتكون المستويات الدموية للتيروزين والفينيل ألانين مرتفعة، كما هو الحال بالنسبة للمستويات البولية للتيروزين و P– هيدروكسي فينيل أسيتات وN – أسيتيل التيروزين والتيرامين (الشكل 32-14). وتعتمد المعالجة على غذاء فقير بالبروتين.

4 – البيلة الألكابتونية (Alkaptonuria): شكل هذا الاضطراب الأيضي الوراثي، الذي لوحظ في بداية القرن السادس عشر وتم تمييزه في عام 1859، أساساً لمفاهيم جارود (Garrod) التقليدية فيما يتعلق بالاضطرابات الأيضية الوراثية. المظهر السريري الأكبر لفتاً للنظر في هذه الحالة هي أن البول يصبح غامق اللون عند تعرضه للهواء. وفي مرحلة متأخرة من هذا الداء، يحدث انصباغ معمم في الأنسجة الضامة (التمغر؛ الصحام؛ الداء الأصفر الأيضي Ochronosis)، وشكل من التهاب المفاصل. وينجم التمغر عن أكسدة الهوموجنتيسات بأكسيداز متعدد الفينول، مشكلاً أسيتات البنزوكينون، التي تتبلمر وترتبط بالجزيئات الكبيرة في الأنسجة الضامة. ويكون العيب الأيضي هو عوز أكسيداز الهوموجنتيسات (التفاعل 3، الشكل 31-13). حيث يتأكسد الهوموجنتيسات في البول بعد ذلك بوساطة أكسجين الهواء إلى صباغ أسود بني. وقد أشارت التقارير إلى وجود أكثر من 600 حالة لهذه الخلة الصبغية الكروموسومية المتنحية. وقد قدرت الإصابات بنحو 2-5 بكل مليون ولادة حية.



الشكل 32-13 : المتوسطات في تقويض التيروزين. جرت مناقشة التفاعلات المبينة في النص باستثناء تفاعل β–كيتو ثيولاز (انظر الفصل 24). رقمت ذرات الكربون لتوضيح المصير النهائي لكل كربون (انظر الشكل 32–15 أيضاً). (α–KG: α– كيتو جلوتارات؛ Glu:جلوتامات؛ PLP: بيريدوكسال فسفات). أما الأرقام ضمن الدوائر فتمثل المواقع المحتملة للعيوب الأيضية في 1– فرط تيرروزين الدم من النمط II؛ 2– فرط تيروزين الدم عند الولدان؛ 3– البيلة الألكابتونية؛ و4– فرط تيروزين الدم من النمط I أو الداء التيروزيني.



الشكل 32-14 : السبيل التقويضي البديل للتيروزين. يتشكل P–
هيدروكسي فينيل أسيتالدهيد كمتوسط في أثناء أكسدة التيرامين إلى
P– هيدروكسي فينيل أسيتات.

يتشكل التيروزين بهدرلة الفينيل ألانين:

يتحول الفينيل ألانين أولاً إلى تيروزين بوساطة هيدروكسيلاز الفينيل ألانين (الشكل 30-10). وبذلك يكون الطراز المميز في المنتجات المتقالبة الفورمات والأسيتو أسيتات (الشكل 32-15) مماثلاً لذلك بالنسبة للتيروزين.

الاضطرابات الأيضية في تقويض الفينيل ألانين:

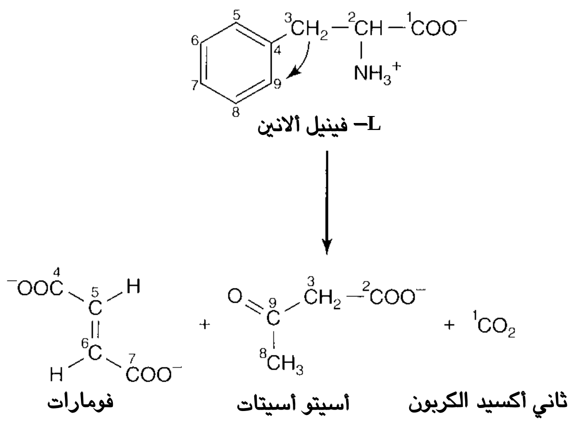
حيث أنه تم تحديد أنماط أخرى (الجدول 32-3)، فإن الاضطرابات الأيضية الرئيسية المترافقة مع تضرر القدرة على تحويل الفينيل ألانين إلى تيروزين، (انظر الشكل 30-10)، تقع في ثلاث مجموعات عامة: (1) عيوب في هيدروكسيلاز الفينيل ألانين (فرط الفينيل ألانين في الدم من النمط I، أو بيلة الفينيل كيتون التقليدية)، (2) عيوب في ردكتاز ثنائي هيدروبيوبتيرين (فرط الفينيل ألانين في الدم من النمطين II وIII)، (3) عيوب في التخليق الحيوي لثنائي هيدروبيوبتيرين (فرط فينيل ألانين الدم من النمطين IV وV).

لقد أمكن تنسيل (استنساخ) وسلسلة الجينات التي ترمز هيدروكسيلاز الفينيل ألانين ومختزلة ثنائي هيدروبيوبتيرين عند الإنسان، وبالتالي فقد توافرت مسابر الدنا DNA لتشخيص العيوب في أي من هذين الإنزيمين قبل الولادة.

إن العاقبة الرئيسية لفرط فينيل ألانين الدم من النمط I غير المعالج (بيلة الفينيل كيتون التقليدية أو PKU) هي التخلف العقلي. تتضمن العلامات السريرية الأخرى كلاً من النوبات والذهانات (Psychoses) والإكزيمة والرائحة الشبيهة برائحة الفئران. ويمكن للمداخلة الغذائية الملائمة أن تحسن التخلف العقلي. وفي بيلة الفينيل كيتون التقليدية، وهي اضطراب وراثي يحدث بتواتر 1 من كل 10,000 ولادة حية تقريباً، يبلغ متوسط مستويات المكون الأول من هيدروكسيلاز الفينيل ألانين الكبدية (انظر الشكل 30-10) 25٪ من السوي تقريباً، وتكون الهيدروكسيلاز غير حساسة للتنظيم بالفينيل ألانين. ونظراً لأن المرضى غير قادرين على تحويل الفينيل ألانين إلى تيروزين، فتكون النواتج التقويضية البديلة هي الفينيل أسيتات والفينيل لاكتات والفينيل أسيتيل جلوتامين (الشكل 32-13). ويفرغ الكثير من الفينيل أسيتات بشكل فينيل أسيتيل جلوتامين (الجدول 32-4). ويمكن منع حدوث التخلف العقلي في بيلة الفينيل كيتون عند الأطفال بغذاء يحوي مستويات منخفضة من الفينيل ألانين. ويمكن إيقاف إعطاء هذا الغذاء بعمر 6 سنوات، حيث لا تعود التراكيز المرتفعة من الفينيل ألانين ومشتقاته قادرة على أذية الدماغ.

إن استقصاء الأطفال حديثي الولادة عن داء PKU أمر إلزامي في الولايات المتحدة. ويمكن قياس الفينيل ألانين في البلازما في 20 ميكرومول من الدم فقط. لكن نظراً لأن مدخول البروتين الغذائي يكون منخفضاً، فقد لا تظهر المستويات الدموية المرتفعة للفينيل ألانين عند الأطفال المصابين ببيلة الفينيل كيتون حتى اليوم الثالث أو الرابع من الحياة. وقد تظهر أيضاً نتائج إيجابية خاطئة عند الأطفال الخُدَّج بسبب تأخر نضج إنزيمات تقويض الفينيل ألانين. وهناك اختبار تقص مفيد، لكنه أقل مصداقية، يعتمد على كشف المستويات البولية المرتفعة من الفينيل بيروفات بكلوريد الحديد.

يؤدي إعطاء الفينيل ألانين إلى الأفراد المصابين ببيلة الفينيل كيتون إلى ارتفاع مديد بمستواه في الدم. وبما أن تحمل الفينيل ألانين ومستواه الصيامي المرتفع يميزان أيضاً أهل المصابين ببيلة الفينيل كيتون، فإنه يمكن الكشف عن العيب الوراثي المسؤول عن بيلة الفينيل كيتون عند الأفراد المتغايري الزيجوت الأسوياء ظاهرياً.



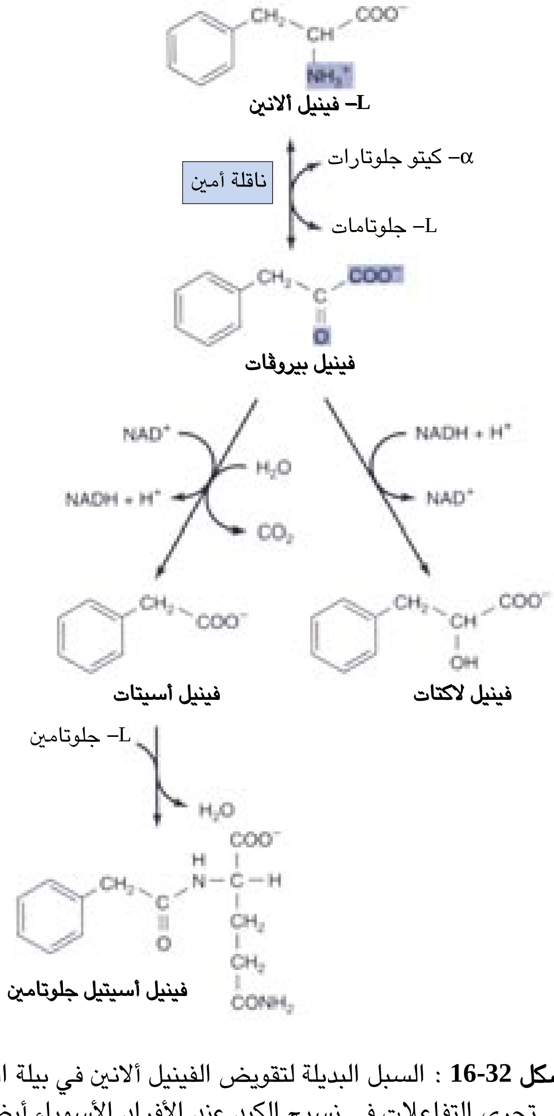
الشكل 32-15: المصير الأيضي النهائي لكل ذرة كربون في الفينيل ألانين. توضح الأرقام أسلوب الوسم بالنظائر في المتوسطات المتقالبة المتشكلة من الفينيل ألانين (والتيروزين).

النمط	الحالة	العيب	المعالجة
I	بيلة الفينيل كيتون	غياب هيدروكسيلاز الفينيل ألانين	غذاء فقير بالفينيل ألانين
II	فرط فينيل ألانين الدم المستمر	نقص هيدروكسيلاز الفينيل ألانين	لا حاجة، أو معالجة غذائية مؤقتة
III	فرط ألانين الدم المعتدل العابر	تأخر نضج الهيدروكسيلاز	مثل النمط II
IV	عوز مختزلة ثنائي هيدروبيوبتيريدين	عوز أو غياب مختزلة ثنائي هيدرو البتيريدين	الدوبا، 5-هيدروكسي تربتوفان، الكاربيدوبا
V	وظيفة غير سوية لثنائي هدروبيوبتيرين	عيب في تخليق ثنائي هيدرو البيوبتيرين	الدوبا، 5-هيدروكسي تربتوفان، الكاربيدوبا
VI	فرط فينيل ألانين الدم المستمر وفرط تيروزين الدم	تقويض التيروزين؟	إنقاص مدخول الفينيل ألانين
VII	فرط تيروزين الدم العابر عند الولدان	تثبيط أكسيداز – Pهيدروكسي فينيل بيروڤات	الڤيتامين C
VIII	فرط تيروزين الدم الوراثي	عوز: 1- أكسيداز – P هيدروكسي فينيل بيروڤات. 2- ناقلة أمين التيروزين الهيولية. 3 – هيدرولاز الفورماريل أسيتو أسيتات.	غذاء فقير بالتيروزين مع إعطاء الجلوتاثيون حقناً

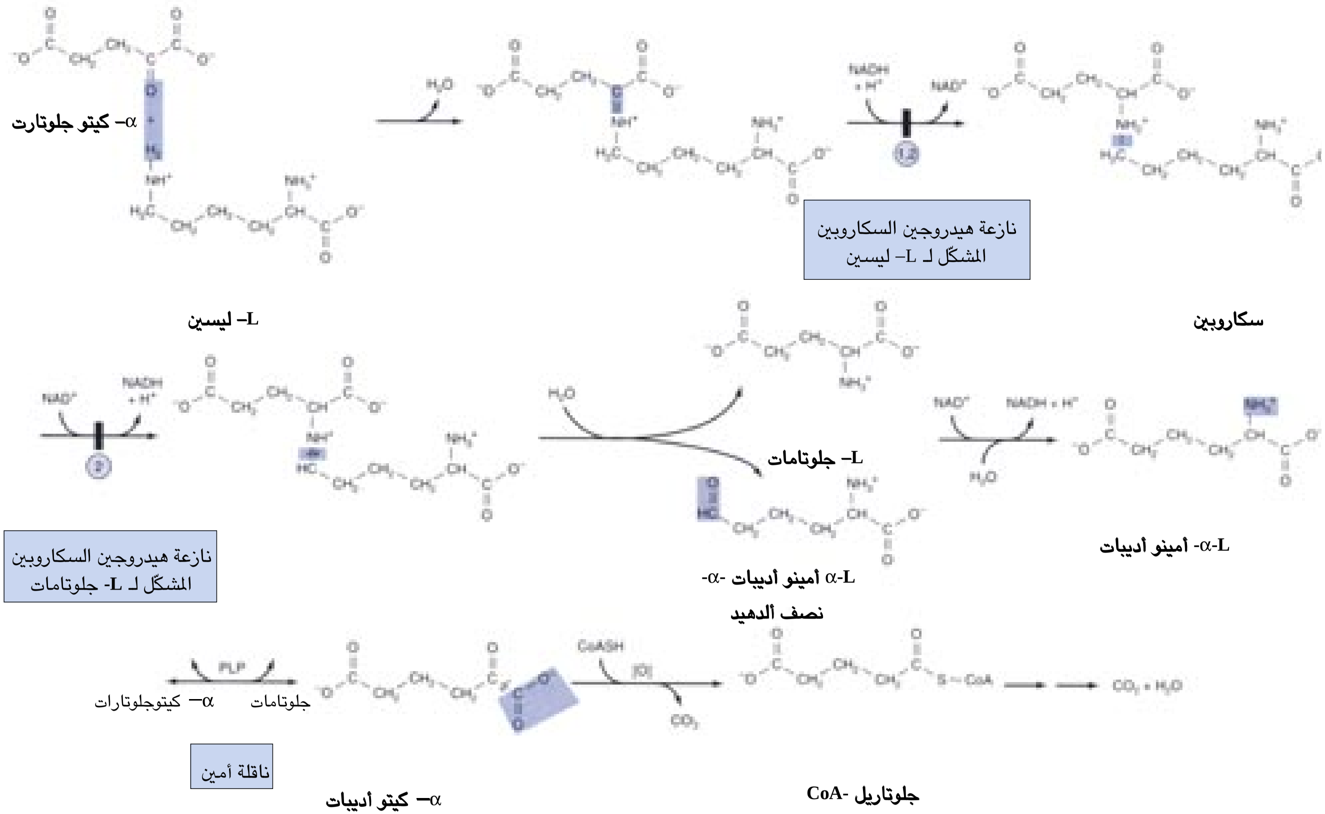
الجدول 32-3 : فرط فينيل ألانين الدم.

لا يسهم نتروجين الليسين في نقل الأمين:

تحول الثدييات الهيكل الكربوني الكامل لـ L – ليزين إلى α – أمينو أديبات و α- كيتو أديبات (الشكل 32-17). وتتضمن المتوسطات كلاً من السكاروبين، وهو متوسط في التخليق الحيوي لليسين في الفطور ويشكل L – ليسين أولاً أساس شيف مع α- كيتو جلوتارات التي ترجع إلى سكاروبين، ثم يؤكسد هذا بنازعة هيدروجين ثانية. وبإضافة الماء يتشكل L – جلوتامات و L-α- أمينو أديبات γ- نصف ألدهيد. وبذلك فإن المحصلة النهائية لهذه التفاعلات تماثل نزع النتروجين – ε من الليسين بنقل الأمين، وهو تفاعل لا يحدث في أنسجة الثدييات.



الشكل 32-16 : السبل البديلة لتقويض الفينيل ألانين في بيلة الفينيل كيتون. تجري التفاعلات في نسيج الكبد عند الأفراد الأسوياء أيضاً لكنها تكون ذات أهمية ثانوية في حال وجود هيدروكسيلاز فينيل ألانين وظيفي.



الشكل 17-32 : تقويض الليسين . (PLP: بيريدوكسال فسفات) تشير الأرقام ضمن الدوائر إلى المواقع المحتملة للعيوب الأيضية في 1- فرط ليسين الدم الدوري مع فرط أمونيا الدم المرافق؛ و 2- فرط ليسين الدم المستمر دون مرافقة فرط أمونيا الدم.

وبنقل أمين α– أمينو أديبات يتشكل α–كيتو أديبات. ويلي ذلك غالباً نزع الكربوكسيل التأكسدي، ليتشكل جلوتاريل -CoA. وفي حين أن الليسين مكون للجليكوجين وللكيتون معاً فإنه من غير المعروف ما هي المقوضات الدقيقة للجلوتاريل -CoA في أجهزة الثدييات.

ينجم شذوذان أيضيان نادران عن اضطراب تحويل L –الليسين و α– كيتو جلوتارات إلى السكاروبين (الشكل 32-17).

1– **فرط ليسين الدم الدوري مع فرط أمونيا الدم المرافق**: يحرض تناول مستويات مرتفعة من البروتين حدوث فرط ليسين الدم، ثم تثبط مستويات الليسين المرتفعة في الكبد أرجيناز الكبد بشكل تنافسي، مما يسبب حدوث فرط أمونيا الدم. وتؤدي المعالجة بالسوائل والحدّ من مدخول الليسين إلى تخفيف كل من فرط أمونيا الدم ومظاهره السريرية. وبالمقابل، يؤدي إعطاء كمية من الليسين إلى التعجيل بحدوث نوبات شديدة وسبات.

ناتج الأيض	البلازما (مج/100مل)		البول (مج/100مل)	
	السوي	بيلة الفينيل كيتون	السوي	بيلة الفينيل كيتون
الفينيل ألانين	2-1	63-15	30	1000-300
الفينيل بيروفات		1.8-0.3		200-30
الفينيل لاكتات				550-290
الفينيل أسيتات				تزداد
فينيل أسيتيل الجلوتامين			300-200	2400

الجدول 32-4 : مستقلبات الفينيل ألانين التي تتراكم في البلازما والبول عند المصابين ببيلة الفينيل ألانين

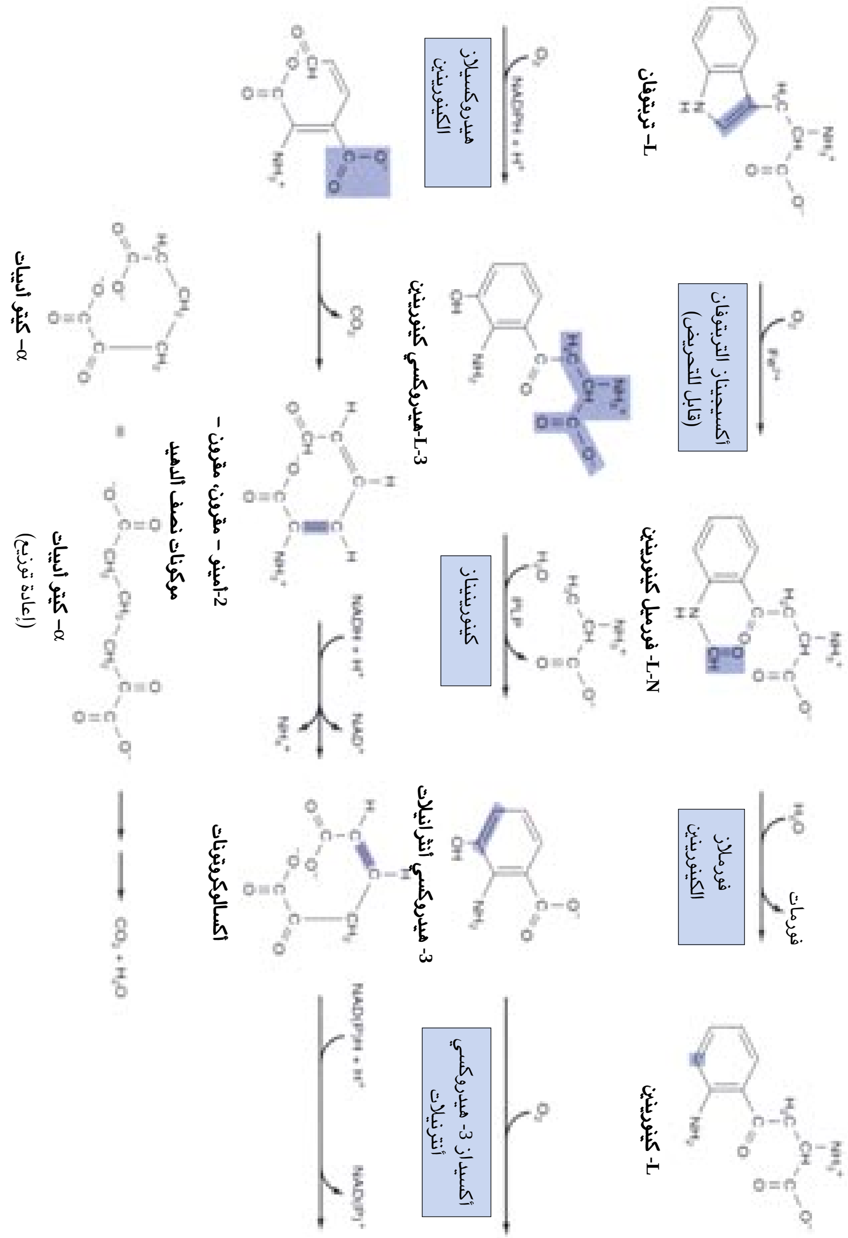
2 – **فرط ليسين الدم المستمر دون فرط أمونيا الدم:** يكون بعض المرضى متخلفين عقلياً. ولا يوجد فرط مرافق في أمونيا الدم، حتى في الاستجابة لإعطاء الليسين. وقد تتراكم نواتج تقويض الليسين في السوائل الحيوية أو لا يحدث ذلك. ويعتقد أن فرط ليسين الدم المستمر حالة وراثية كخلة كروموسومية جسدية متنحية.

بالإضافة إلى الخلل في تحويل الليسين و α– كيتو جلوتارات إلى السكاروبين، فإن بعض المرضى لا يستطيعون شطر السكاروبين (الشكل 32-17).

يبدأ أكسجيناز التربتوفان تقويض التربتوفان:

يمكن لذرات الكربون في كل من السلسلة الانبية والحلقات العطرية بالتربتوفان أن تتدرك بشكل كامل إلى متوسطات متقالبة عن طريق سبيل الكينورينين ـ الأنثرانيلات (الشكل 32-18).

يحفز أكسيجيناز التربتوفان (بيرولاز التربتوفان) انشطار حلقة الإندول مع دمج ذرتين من الأكسجين الجزيئي، فيتشكل بذلك N – فورميل كينورينين. ويكون الأكسجيناز، وهو بروتين معدني لبرفيرين الحديد، قابلاً للتحريض في الكبد بستيرويدات قشر الكظر وبالتربتوفان. ويكون جزء كبير من الإنزيم المتخلق حديثاً في حالة كامنة تحتاج للتنشيط. ويجعل التربتوفان الأكسجيناز ثابتاً أيضاً في اتجاه التدرك الحال للبروتين. ويتثبط أكسجيناز التربتوفان بالارتجاع بمشتقات حمض النيكوتينيك، وضمن ذلك الـ NADPH. ويؤدي نزع زمرة الفورميل من N – فورميل كينورينين بالحلمهة بتحفيز فورميلاز الكينورينين بكبد الثدييات، إلى إنتاج الكينورينين (الشكل 32-18). ويمكن أن ينزع أمين الكينورينين بنقل الأمين. ويفقد الناتج 2– أمينو –3– هيدروكسي بنزول البيروفات الماء، وبانغلاق الحلقة التلقائي اللاحق يتشكل ناتج ثانوي هو حمض الكينورينيك (غير معروض في الشكل)، وبدلاً من ذلك يتضمن الأيض التالي للكينورينين تحوله إلى 7–3– هيدروكسي كينورينين، ثم إلى 3– هيدروكسي أنثرانيلات. وتحتاج الهدرلة للأكسجين الجزيئي في تفاعل معتمد على NADPH شبيهاً بتفاعل هدرلة الفينيل ألانين (الشكل 30-10).



الشكل 18-32 : تقويض L- تربتوفان.

تتراكم الزانتورينات في عوز الڤيتامين B_6:

يتحول كل من الكينورينين وهيدروكسي الكينورينين إلى هيدروكسي أنثرانيلات بوساطة الكينورينيناز (Kynureninase)، وهو إنزيم البيريدوكسال فسفات (الشكل 32-18). ويؤدي عوز الڤيتامين B_6 إلى قصور جزئي في تقويض مشتقات الكينورينين هذه، فتتشكل الزانتورينات (الشكل 32-19) التي توجد في البول عندما يكون الڤيتامين B_6 في الغذاء غير كاف. ويحرض تناول كميات مفرطة من التربتوفان إفراغ الزانتورينات في عوز الڤيتامين B_6.

إن تحول التربتوفان إلى حمض النيكوتينيك عند العديد من الحيوانات يجعل من الإمداد الغذائي بالڤيتامين غير ضروري. وبالنسبة للإنسان وحيوانات أخرى، يزيد التربتوفان الإفراغ البولي لمشتقات حمض النيكوتينيك (مثل N- ميتيل النيكوتيناميد). وفي عوز الڤيتامين B_6، يمكن أن يضطرب تخليق الـ NAD^+ و الـ $NADP^+$ بفعل التحول غير الكافي للتربتوفان إلى حمض النيكوتينيك من أجل تخليق نوكليوتيد البيريدين. وإذا كان الإمداد كافياً من حمض النيكوتينيك، فإن تخليق نوكليوتيد البيريدين يتتابع بشكل سوي حتى في غياب الڤيتامين B_6.

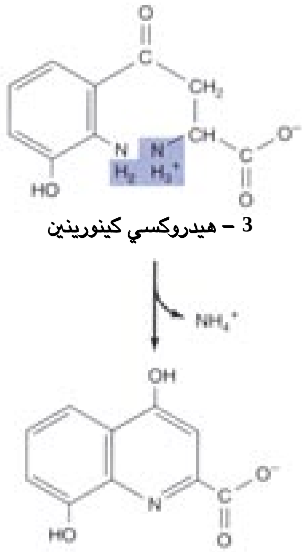
ينجم داء هارتنوب (Hartnup)، وهو خلة كروموسومية جسدية متنحية، عن عيوب في النقل المعوي والكلوي للأحماض الأمينية المتعادلة ومنها التربتوفان. وتتضمن العلامات: بيلة عامة بالأحماض الأمينية المتعادلة، وزيادة إفراغ مشتقات الإندول عموماً التي تنشأ من تدرك التربتوفان غير الممتص في البكتريا المعوية. ويؤدي اضطراب كل من الامتصاص المعوي وعود الامتصاص الكلوي للتربتوفان إلى الحد من توافر التربتوفان للتخليق الحيوي للنياسين، ويكون مسؤولاً عن الأعراض والعلامات المرافقة الشبيهة بالبلاجرة (Pellagra).

يتقوض كل من الميثيونين والإيزولوسين والڤالين إلى السكسينيل -CoA:

حيث أن السكسينيل -CoA هو الناتج النهائي المتقالب في تقويض كل من

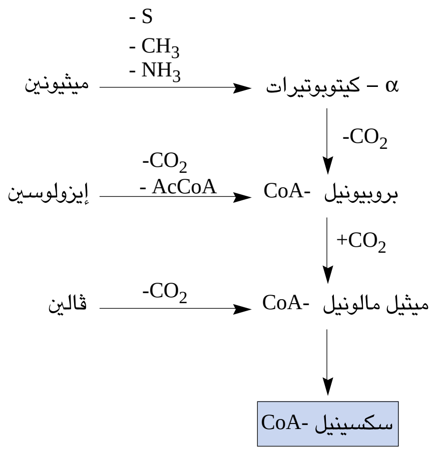
الميثيونين والإيزولوسين والفالين، فإن أجزاء فقط من الهياكل تتحول (الشكل 32-20). حيث أن أربعة أخماس ذرات كربون الفالين وثلاثة أخماس تلك في الميثيونين ونصف التي في الإيزولوسين تشكل السكسينيل-CoA. وتشكل ذرات كربون الكربوكسيل لكل هذه الأحماض الثلاث الـ CO_2. أما الكربونان الطرفيان للإيزولوسين فيشكلان أسيتيل-CoA، وتنزع الزمرة الميثيلية من الميثيونين كذلك.

إن الذي يلي ذلك يتعلق فقط بتحول الميثيونين والإيزولوسين إلى بروبيونيل -CoA والفالين إلى ميثيل مالونيل -CoA. وقد ناقشنا في الفصل (24) التفاعلات الواقعة بين بروبيونيل -CoA عبر ميثيل مالونيل-CoA إلى سُكسينيل -CoA وذلك في سياق الحديث عن تقويض البروبيونات والأحماض الدهنية التي تحوي عدداً فردياً من ذرات الكربون.



زانتورينات

الشكل 32-19: تشكيل الزانتورينات في عوز الفيتامين B_6. حيث يضطرب تحول أيض التربتوفان 3– هيدروكسي كينورينين إلى 3– هيدروكسي أنثرانيلات (انظر الشكل 32-18). لذلك يتحول جزء كبير إلى الزانتورينات.



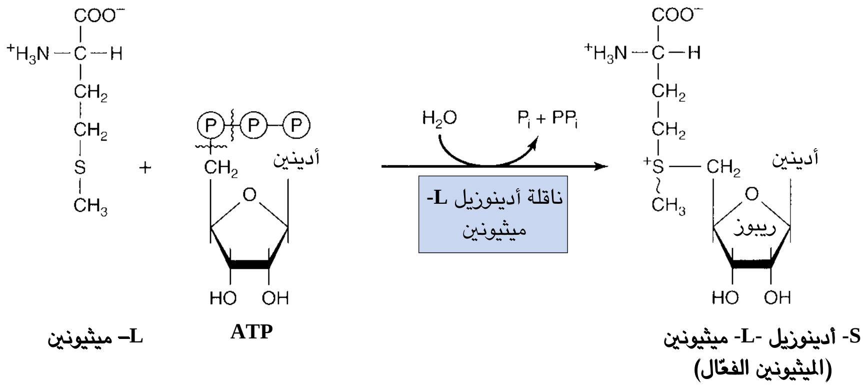
الشكل 32-20 : خلاصة الأيض الإجمالي للميثيونين والإيزولوسين والڤالين.

تشكل ذرات كربون الميثيونيل البروبيونيل -CoA:

يتكاثف L– ميثيونين أولاً مع ATP، مشكلاً S- أدينوزيل الميثيونين «الميثيونين الفعال» (الشكل 32-21). ويمكن لزمرة S– ميثيل النشيطة أن تنتقل إلى متقبلات متنوعة. ويؤدي نزع زمرة الميثيل إلى تشكيل S– أدينوزيل الهوموسيستيين. وتعطي حلمهة الرابطة S-C كل من L – هوموسيستيين والأدينوزين. ثم يتكاثف الهوموسيستيين مع السيرين فيتشكل السيستاتيونين (الشكل 32-22). ويؤدي انشطار السيستاتيونين بالحلمهة لتشكيل L– هوموسيرين مع السيستيين، بحيث يكون التأثير الصافي هو تحول الهوموسيستيين إلى الهوموسيرين، وتحول السيرين إلى سيستيين. لذلك يسهم هذان التفاعلان أيضاً في التخليق الحيوي للسيستيين من السيرين (انظر الفصل 30).

ويتحول الهوموسيرين إلى α– كيتو بوتيرات بوساطة نازعة أمين الهوموسيرين (الشكل 32-23). ثم يتحول α– كيتو بوتيرات إلى بروبيونيل -CoA بالأسلوب الاعتيادي لضم الكربوكسيل التأكسدي للأحماض الكيتونية –α (كالبيروڤات و α–

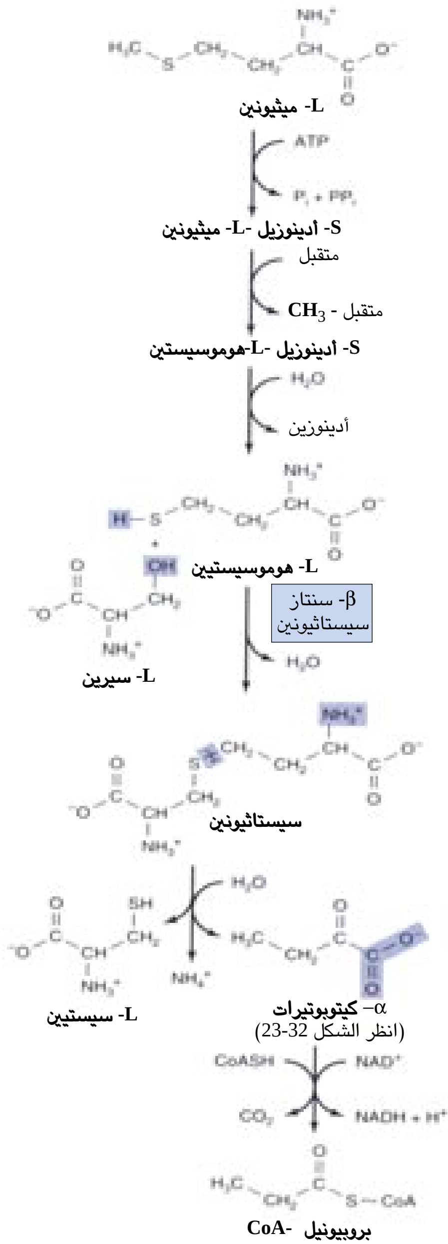
كـيـتـوجلوتارات)، لتـشكيل مـشـتـقـات أسـيل ‎-CoA‏. ويدرج (الجـدول 32-2) الاضطرابات الأيضية في تقويض الميثيونين.



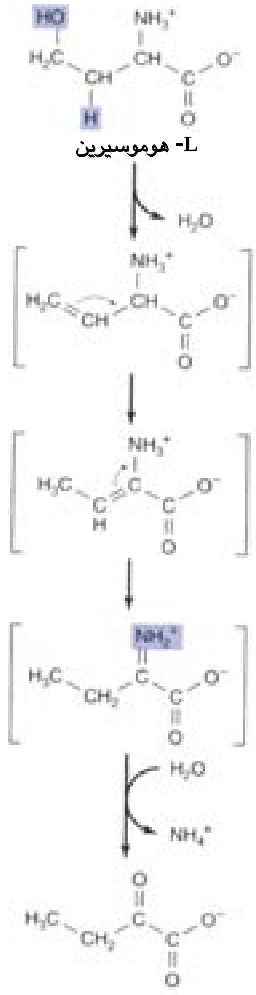
الشكل 32-21 : تشكيل S –أدينوزيل ميثيونين. تمثل $\sim CH_3$ كموناً عالياً لنقل زمرة «الميثيونين الفعال».

يكون أول تفاعلين تقويضيين مشتركين لكل الأحماض الأمينية الثلاث ذات السلسلة المتفرعة:

يتضمن تقويض اللوسين والفالين والإيزولوسين التفاعلات نفسها في البداية. ثم يجتاز كل هيكل من الأحماض الأمينية سبيلاً مستقلاً نحو المتوسطات المتقالبة (الشكلان 32-24 و 32-25) التي تحدد بنيتها أن يكون الفالين مولداً للجلوكوز، واللوسين مولداً للكيتون، والإيزولوسين مولداً لكليهما. ويكون العديد من التفاعلات المساهمة شبيهاً لتفاعلات تقويض الأحماض الدهنية متفرعة ومستقيمة السلسلة. أما ما يلي ذلك فهذا ما تشير إليه أرقام التفاعلات (بالأشكال 32-25 و 32-26 و32-27 و 32-28).



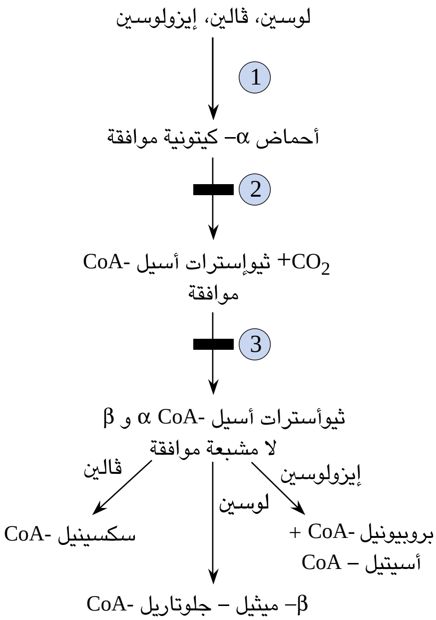
الشكل 32-22 : تحول الميثيونين إلى البروبيونيل -CoA



α– كيتو بوتيرات

الشكل 32- 23 : تحول L- هوموسيرين إلى α – كيتو بوتيرات بتحفيز نازعة أمين هوموسيرين.

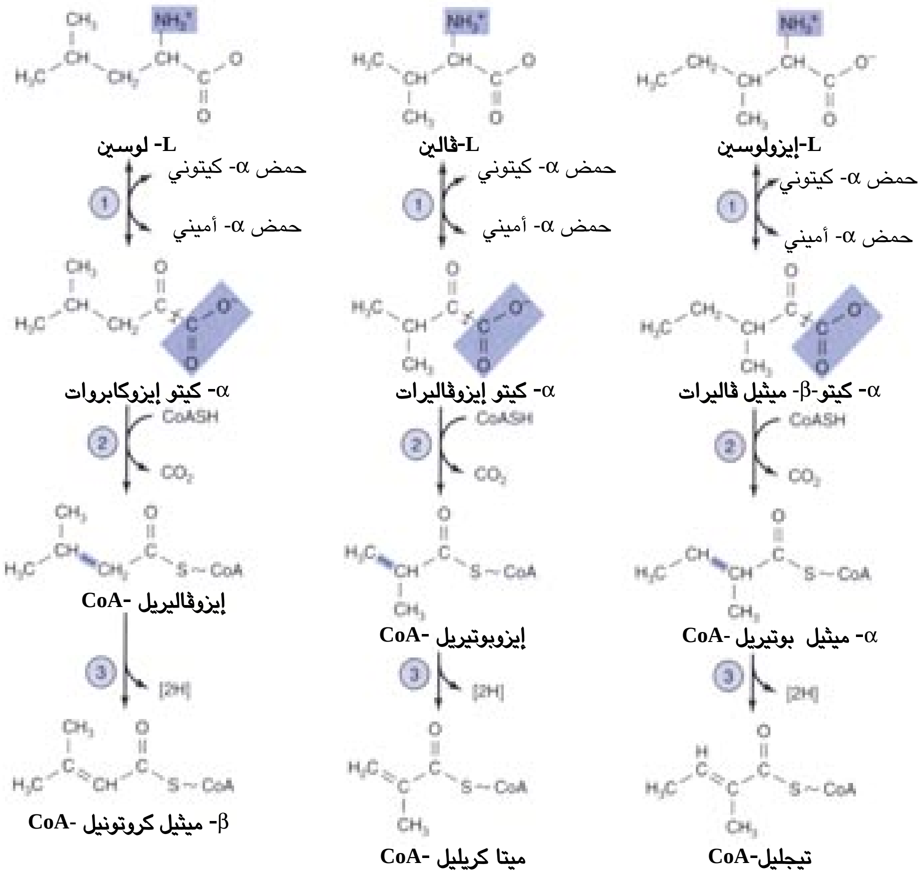
يجري تقويض الأحماض الأمينية متفرعة السلسلة في الكبد والكلية والعضلات والقلب والنسيج الشحمي، ويبدأ بدخولها للخلايا عن طريق ناقل في الغشاء الخلوي. وبعد نقل الأمين العكسي، تدخل الأحماض α – كيتو الناتجة إلى المتقدرات، حيث ينزع الكربوكسيل منها تأكسدياً بنازعة كربوكسيل وحيدة للأحماض α– كيتو ذات السلسلة المتفرعة، وهو معقد متعدد الإنزيمات يرتبط بالغشاء المتقدري الداخلي بشكل رخو. ثم يتقوض ما ينتج من الثيوأسترات (الأسترات الثيولية) α– كيتو أسيل -CoA متفرعة السلسلة في سبل منفصلة.



الشكل 32- 24 : تقويض الأحماض الأمينية متفرعة السلسلة. إن التفاعلات 1 و2 و3 مشتركة، لكل الأحماض الأمينية الثلاثة. وتدل الخطوط التي تتقاطع مع الأسهم إلى مواقع الإحصارات الأيضية في مرضين نادرين يصيبان الإنسان هما؛ عند 2: داء بول شراب القبقب وهو عيب في تقويض الأحماض الأمينية الثلاث كلها؛ وعند 3: احمضاض الدم بحمض الإيزوڤاليريك، وهو عيب في تقويض اللوسين.

هناك إنزيم واحد ينقل أمين كافة الأحماض الأمينية المتفرعة الثلاث:

يحفز نقل أمين كل الأحماض الأمينية المتفرعة الثلاث بناقلة أمين واحدة (التفاعل 1، الشكل 32-25). وحيث أن هذا التفاعل عكسي، فإنه يمكن للأحماض α- كيتو الموافقة أن تحل مكان أحماضها الأمينية في الغذاء.



الشكل 32- 25 : التفاعلات الثلاث الأولى المتماثلة في تقويض اللوسين والڤالين والإيزولوسين. لاحظ أيضاً تماثل التفاعلين 2 و 3 مع تفاعلات تقويض الأحماض الدهنية (انظر الفصل 24). هذا ويستمر التماثل مع تقويض الأحماض الدهنية كما هو مبيّن في الأشكال اللاحقة.

يكون نزع الكربوكسيل التأكسدي للأحماض α– كيتو المتفرعة مماثلاً لتحويل البيروفات إلى أسيتيل -CoA :

يقوم المعقد متعدد الإنزيمات المتقدري نازعة هيدروجين الأحماض α– كيتو متفرعة السلسلة بتحفيز نزع الكربوكسيل التأكسدي من الأحماض α– كيتو المشتقة من اللوسين والإيزولوسين والفالين (التفاعل 2، الشكل 32-25). وتماثل بنية نازعة الهيدروجين هذه وآلية تنظيمها، إلى حد بعيد، تلك التي لنازعة هيدروجين البيروفات. فوحيداتها هي نازعة كربوكسيل الحمض α– كيتو وناقلة الأسيل ونازعة هيدروجين ثنائي هيدرو الليبويل. ويكون المعقد غير نشيط عندما يفسفت بالـ ATP وبكيناز بروتيني، ويعاد تنشيطه بفسفاتاز البروتين الفسفوري غير المعتمد على Ca^{+2}. ويتثبط الكيناز البروتيني بكل من الـ ADP والأحماض α– كيتو متفرعة السلسلة وبالعوامل الخافضة لشحوم الدم: الكلوفيبرات والديكلوروأسيتات، وبتيوأسترات التميم الإنزيمي A.

إن نزع هيدروجين ثيوأسترات أسيل -CoA المتفرعة مماثل لتفاعل تقويض الأحماض الدهنية:

يكون التفاعل 3 مماثلاً لنزع هيدروجين ثيوأسترات أسيل -CoA في تقويض الأحماض الدهنية. وتشير الأدلة غير المباشرة إلى مساهمة إنزيمين على الأقل. ففي احمضاض الدم بحمض الإيزوفاليريك، يؤدي تناول أطعمة غنية بالبروتين إلى ارتفاع المستويات الدموية للإيزوفاليرات، وهي ناتج نزع أسيل إيزوفاليريل -CoA.

هناك ثلاثة تفاعلات نوعية في تقويض اللوسين:

1– التفاعل 4L : إن أساس فهم فعل اللوسين المولد للكيتون هو اكتشاف أن جزيئاً واحداً من CO_2 يتم تثبيته بكل جزيء من زمر الإيزوبروبيل باللوسين المتحول إلى أسيتوأسيتات. ويحتاج تثبيت هذا الـ CO_2 (التفاعل 4L، الشكل 32-26) إلى بيوتينيل -CO_2 ويشكل β– ميثيل جلوتاكونيل -CoA.

2– التفاعل 5L : بإماهة β– ميثيل جلوتاكونيل -CoA يتشكل β–هيدروكسي – β – ميثيل جلوتاريل (HMG-CoA) -CoA، وهو طليعة لكل من الأجسام الكيتونية (التفاعل 6L، الشكل 32-26) والميڤالونات، ومن ثم الكوليسترول وكافة متعددات الإيزوبرينويد الأخرى (الفصل 28).

3 – التفاعل 6L : إن تفاعل انشطار HMG-CoA إلى أسيتيل -CoA وأسيتوأسيتات بوساطة لياز HMG-CoA في متقدرات الكبد والكلية والقلب مسؤول عن تأثير اللوسين المولد للكيتون بقوة. فليس جزئياً واحداً فقط من الأسيتوأسيتات يتشكل مقابل كل جزيء من اللوسين، بل يمكن أن يتشكل نصف جزيء آخر من الأجسام الكيتونية من الناتج المتبقي، أي أسيتيل -CoA (الفصل 24).

توجد أربعة تفاعلات نوعية في تقويض الڤالين:

1 – التفاعل 4V : تحفز إماهة ميثيل أكريليل -CoA بوساطة الكروتوناز، وهو إنزيم هيدرولاز واسع النوعية لثيوأسترات التميم الإنزيمي A للأحماض– β هيدروكسي، التي تحوي من أربع إلى تسع ذرات كربون (الشكل 32-27).

2 – التفاعل 5V : نظراً لأن – β هيدروكسي إيزوبوتيريل -CoA ليس ركيزة للتفاعل التالي، لذلك ينزع أسيله ليتشكل – β هيدروكسي إيزوبوتيرات.

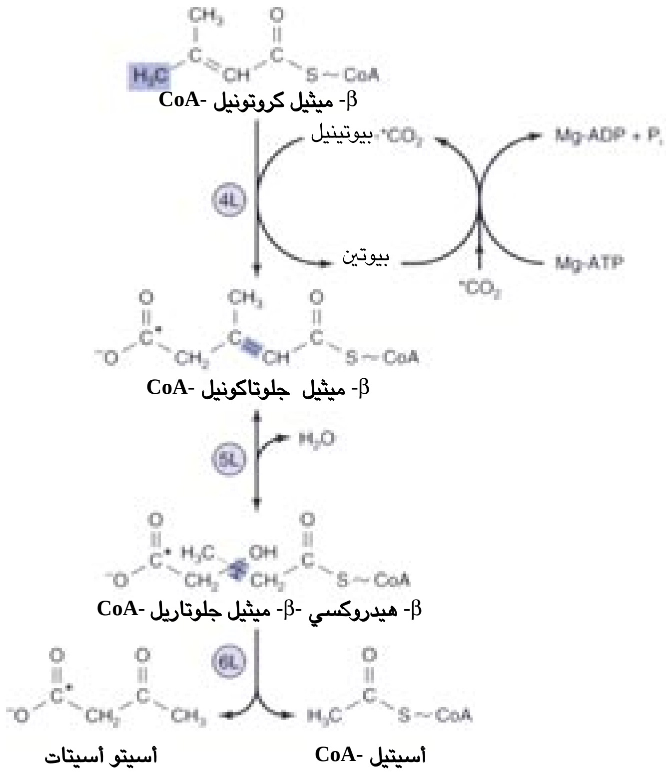
3 – التفاعل 6V : إن الأكسدة العكسية المعتمدة على NAD^+ للزمرة الكحولية الأولية في β –هيدروكسي إيزوبوتيرات تحولها إلى ألدهيد ويؤدي هذا إلى تشكيل ميثيل مالونات نصف ألدهيد.

4 – التفاعل 7V : يؤدي نقل أمين ميثيل مالونات نصف ألدهيد إلى تشكيل α– أمينو إيزوبوتيرات، وهو حمض أميني يوجد في البول بالحالة السوية.

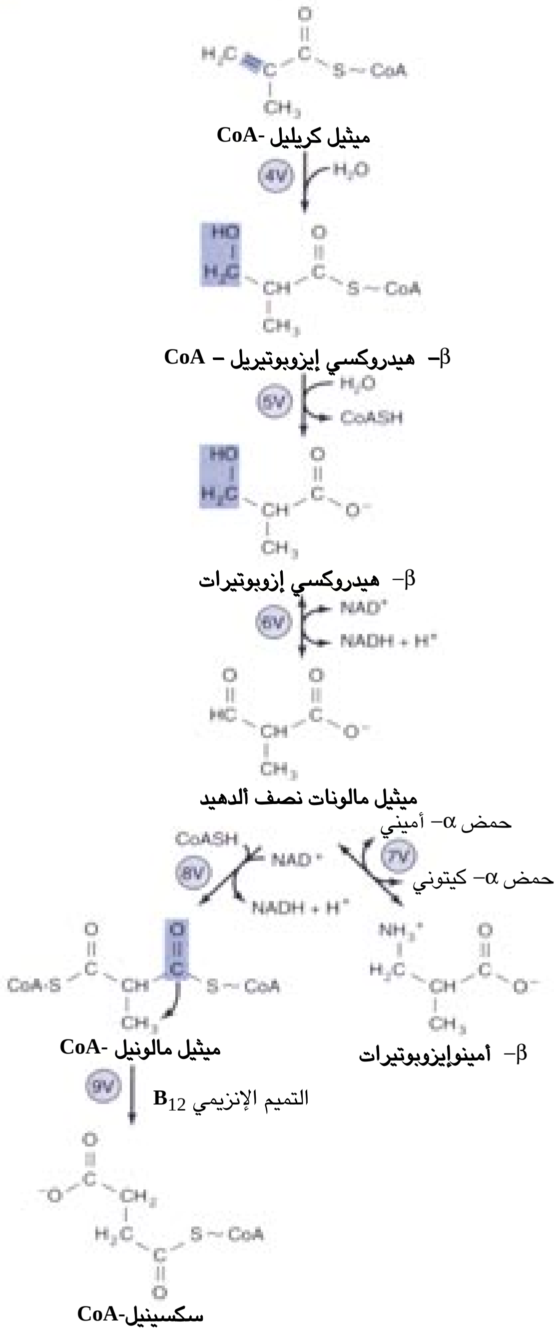
5 – التفاعل 8V : بدلاً من ذلك يضاف الأسيل تأكسدياً لميثيل مالونات نصف ألدهيد فيتشكل ميثيل مالونيل -CoA.

6 – التفاعل 9V : تحفز مصاوغة ميثيل مالونيل -CoA إلى سكسينيل -CoA

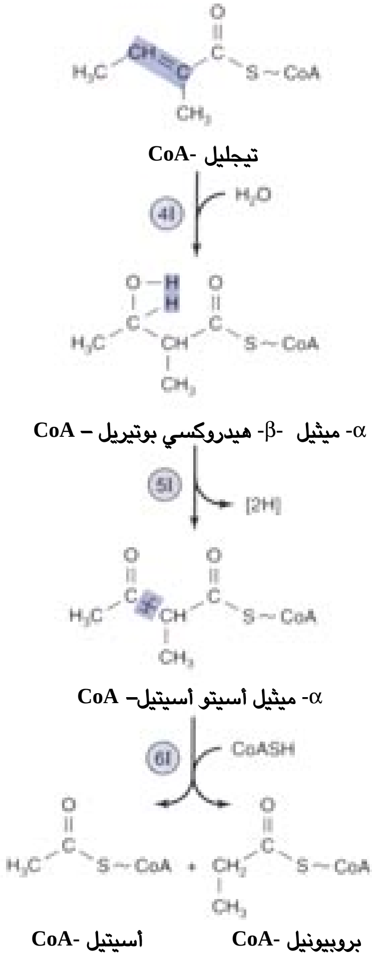
بوساطة موتازميثيل مالونيل CoA؛ الإنزيم الذي تميمه هو مشتق الڤيتامين B_{12}، أدينوزيل كوبالامين (التفاعل 9V) ويعمل تفاعل المصاوغة هذا على تحويل البروبيونيل -CoA المشتق من الإيزولوسين إلى سكسينيل -CoA (الشكل 32-28). وتتضرر فعالية الموتاز في عوز الڤيتامين B_{12}. وينتج عن ذلك «عيب أيضي غذائي» عند المجترات التي تستعمل البروبيونات الناشئة عن التخمر في الكرش كمصدر للطاقة.



الشكل 32- 26 : تقويض β– ميثيل كروتونيل -CoA المتشكل من L– لوسين.
تشير النجوم إلى ذرات الكربون المشتقة من CO_2.



الشكل 32- 27 : التقويض اللاحق لميثاكريليل -CoA المتشكل من L– ڤالين (انظر الشكل 32-25).



الشكل 32- 28 : التقويض اللاحق لتيجليل -CoA المتشكل من L– إيزولوسين.

هناك ثلاثة تفاعلات مميزة لتقويض الإيزولوسين:

1 – التفاعل 4I : تحفز إماهة تيجليل -CoA، على غرار التفاعل المضاهئ في تقويض الفالين (التفاعل 4V) بالكروتوناز (الشكل 32-28).

2 – التفاعل 5I : يكون نزع هيدروجين α– ميثيل β– هيدروكسي بوتيريل -CoA مضاهئاً للتفاعل 5V في تقويض الفالين.

3 – التفاعل 6I : إن الانشطار بحل ثيول الرابطة التي تربط الكربونين 2 و 3 في α– ميثيل أسيتو أسيتيل -CoA، يماثل الانحلال الثيولي لأسيتو أسيتيل -CoA بوساطة β– كيتوتيولاز. ويكون الناتجان، أسيتيل -CoA (المولد للكيتون) وبروبيونيل -CoA (المولد للسكر)، مسؤولين عن خصائص الإيزولوسين المولدة للكيتون والسكر معاً.

الاضطرابات الأيضية في تقويض الأحماض الأمينية متفرعة السلسلة:

1 – داء بول شراب القيقب (Maple syrup) (بيلة الكيتون متفرع السلسلة): إن المظهر الأكثر وضوحاً لهذا الاضطراب الوراثي الجسدي المتنحي (معدل الإصابة 1 من كل 185,000 ولادة حية في العالم) هو رائحة البول، التي تشبه رائحة شراب القيقب أو السكر المحروق (الكَرميل). وترتفع المستويات البلازمية والبولية لكل من اللوسين والإيزولوسين والفالين وأحماضها الكيتونية– α. كما تظهر أيضاً كميات ضئيلة من الأحماض α– هيدروكسي متفرعة السلسلة، التي تتشكل بإرجاع الأحماض الكيتونية –α.

ويصبح المرض واضحاً بنهاية الأسبوع الأول من الحياة خارج الرحم. فيبدي الطفل صعوبة في تناول الطعام، وقد يتقيأ وقد يكون خاملاً. ومن الممكن إجراء التشخيص قبل الأسبوع الأول من العمر بالتحليل الإنزيمي أو الجيني فقط. وتحدث أذية دماغية شاملة عند الأطفال الذين يبقون على قيد الحياة. ويحدث الموت عادة في نهاية السنة الأولى من العمر إن لم يعالج الطفل. ويكون العيب الكيميائي الحيوي هو

غياب نازعة كربوكسيل الحمض الكيتوني– α أو تناقص فعاليتها بشكل كبير (التفاعل 2، الشكل 32-25). وما تزال آلية التسمم غير معروفة. ويحول بدء المعالجة في الأسبوع الأول من الحياة دون العواقب الوخيمة بشكل كبير. وتتضمن المعالجة استبدال البروتين الغذائي بمزيج من الأحماض الأمينية التي يُستبعد منها اللوسين والإيزولوسين والڤالين. وعندما تنخفض مستويات هذه الأحماض الأمينية في البلازما إلى الحدود السوية، فإنه يمكن أن تُعاد بشكل حليب وأطعمة أخرى وبكميات لا تتجاوز أبداً الحاجة الأيضية.

عندما تتلف الطفرة مختزلة ثنائي هيدروليبوات (E_3)، فإنه يحدث عجز مشترك بنزع كربوكسيل البيروڤات و α ـ كيتوجلوتارات والأحماض الكيتونية ـ α متفرعة السلسلة. وإذا أخذنا في الحسبان تعقيد المعقد متعدد الإنزيمات الذي يحوِّل الأحماض الكيتونية ـ α متفرعة السلسلة إلى ثيوإسترات أسيل -CoA الموافقة، فإنه ليس مدهشاً أن تؤدي طفرات متعددة إلى داء بول شراب القيقب. فعلى سبيل المثال، يكون العيب في الحي القديم «لانكستر» في بنسلڤانيا، حيث يبلغ معدل الإصابة بداء بول شراب القيقب 175:1، هو طفرة متماثلة الزيجوت من التيروزين 395 إلى الأسبارجين في الوحيدة –α E1 من نازعة الكربوكسيل التي يختل ارتباطها مع الوحيدات ـ β E1.

2 – البيلة الكيتونية متفرعة السلسلة المتقطعة: هذه الحالة شكل مختلف من داء بول شراب القيقب وتعكس على الأغلب تعديلاً بنيوياً أقل وخامة في نازعة كربوكسيل الأحماض الكيتونية ـ α. ونظراً لأن الأفراد المصابين يمتلكون قدرة مضطربة، لكنها متميزة، على تقويض اللوسين والڤالين والإيزولوسين، فإن الأعراض تظهر بشكل متأخر في الحياة وبشكل متقطع تماماً، ويكون التوجه للمعالجة الغذائية هو الأفضل لهذه الحالة.

يمثل داء بول شراب القيقب والبيلة الكيتونية متفرعة السلسلة المتقطعة طفرات تؤدي إلى تبدلات مختلفة في البنية الأولية للإنزيم نفسه. لذلك يمكن أن نجد عند الأفراد طيفاً من الفعاليات التي تتراوح من المرض الواضح سريرياً عبر التظاهرات المتقطعة إلى القيم السوية.

3 – **احمضاض الدم بحمض الأيزوڤاليريك (Isovaleric Acidemia)**: يكون الإنزيم المعيب هنا هو نازعة هيدروجين إيزوڤاليريل -CoA (التفاعل 3، الشكل 32-25). ويتراكم إيزوڤاليريل -CoA ويحلمه إلى إيزوڤاليرات، ويفرغ في البول والعرق. وتتضمن الأعراض رائحة «تشبه الجبن» في النفس وسوائل الجسم وقياء وحماضاً وسباتاً ينتج عن بتناول كميات مفرطة من البروتين.

اضطرابات تقويض الميثيل مالونيل -CoA :

1 – **بيلة حمض الميثيل مالونيك**: يقوم تفاعل معتمد على الڤيتامين B_{12} كتميم إنزيمي بمصاوغة الميثيل مالونيل CoA إلى سكسينيل -CoA (التفاعل 9V، الشكل 32-27). وتختفي بيلة حمض ميثيل المالونيك من المرضى بعوز الڤيتامين B_{12} المكتسب عندما تعطى كميات كافية من الڤيتامين B_{12}. ويعرف من هذه الحالة شكلان: واحد يستجيب للمستويات الدوائية من الڤيتامين B_{12}، والثاني يحتاج لجرعات كبيرة (1جم/باليوم) من الڤيتامين B_{12}.

2 – **بيلة حمض البروبيونيك**: يتميز عوز نازعة كربوكسيل البروبيونيل -CoA بارتفاع مستويات البروبيونات في المصل. وتتألف المعالجة من غذاء فقير بالبروتين وإجراءات للتخلص من الحماض الأيضي.

الخلاصة:

عندما توجد الأحماض الأمينية بكميات تفوق الحاجات الأيضية، تتقوض هياكلها الكربونية إلى متوسطات متقالبة تستعمل كمصدر للطاقة أو كركائز للتخليق الحيوي للسكريات والشحميات. ويكون نزع النتروجين الأميني– α بنقل الأمين هو التفاعل الأولي في تقويض الأحماض الأمينية في معظم الحالات. وتنزع التفاعلات التالية أية ذرات نتروجين أخرى، وتعيد بناء الهيكل الهيدروكربوني المتبقي لتحويله إلى متوسطات متقالبة، كالأكسالوأسيتات و α– كيتوجلوتارات والبيروڤات وأسيتيل -CoA؛ فعلى سبيل المثال، يؤدي نزع أمين الأسبارجين إلى تشكيل الأسبارتات

التي تصبح بدورها أكسالوأسيتات. ويشكل كل من الجلوتامين والجلوتامات α– كيتوجلوتارات بتفاعلات مماثلة. ولا تترافق اضطرابات أيضية معروفة مع تقويض هذه الأحماض الأمينية الأربعة ويترافق نمطان من فرط برولين الدم مع السبيل التقويضي الذي يحول البرولين إلى α– كيتوجلوتارات. ويحفز التفاعل الأولي في تقويض الأرجينين بالأرجيناز، وهو إنزيم في تخليق اليوريا. ثم يؤدي نقل أمين النتروجين – δ بالأورنيثين إلى تشكيل جلوتامات – γ – نصف ألدهيد، وعند هذه النقطة، يندمج تقويض الأرجينين مع تقويض الهيستيدين.

هناك ستة أحماض أمينية تشكل البيروفات. وتضم الأمراض الأيضية المترافقة مع تقويض الجليسين: بيلة الجليسين وفرط البيلة الأكسالية الأولية. ويؤدي نقل أمين ألانين إلى تشكيل البيروفات بشكل مباشر، في حين يتقوض السيرين عن طريق الجليسين. وبعد إرجاع السيستين إلى سيستيين، تحول مجموعتان من التفاعلات التقويضية السيستيين إلى بيروفات. وتتضمن الأمراض الأيضية المرافقة لتقويض السيستيين: بيلة السيستيين ـ الليسين وداء تخزين السيستيين وبيلات الهوموسيستين. ويندمج تقويض الثريونين مع تقويض الجليسين بعد أن يقوم ألدولاز الثريونين بشطر الثريونين إلى جليسين وأسيتالدهيد. وتؤدي أكسدة الأسيتالدهيد إلى تشكيل الأسيتات، وفي النهاية الأسيتيل CoA-. ويترافق فرط هيدروكسي البرولين في الدم مع قدرة معيبة على تدرك 4– هيدروكسي البرولين إلى بيروفات وجليوكسيلات.

هناك اثنا عشر حمضاً أمينياً تشكل أسيتيل COA-. فبعد نزع الأمين، يتدرك الهيكل الكربوني للتيروزين إلى فومارات وأسيتوأسيتات عن طريق سلسلة طويلة من التفاعلات.

وتتضمن الأمراض الأيضية المرافقة للعيوب الإنزيمية في تقويض التيروزين: الداء التيروزيني ومتلازمة رايخنر ـ هانهرت وفرط تيروزين الدم عند الولدان والبيلة الألكابتونية. وتؤدي هدرلة الفينيل ألانين إلى تشكيل التيروزين. وتضم الاضطرابات الأيضية في تقويض الفينيل ألانين: بيلة الفينيل كيتون (PKU) وعدداً من حالات فرط فينيل ألانين الدم.

لا يخضع أي نتروجين من الليسين لنقل الأمين. وينزع النتروجين الأميني- α بشكل لا مباشر عن طريق السكاروبين. وتتضمن الأمراض الأيضية في تقويض الليسين أشكالاً دورية ومستمرة من فرط ليسين الدم/ وجود الأمونيا في الدم. ويتراكم متأيض التربتوفان الشاذ، الزانتورينات، في عوز الڤيتامين B_6.

يتقوض كل من الميثيونين والإيزولوسين والڤالين إلى سكسينيل -CoA. ويظهر تقويض اللوسين والڤالين والايزولوسين العديد من نقاط التشابه مع تقويض الأحماض الدهنية. ويكون نزع الكربوكسيل التأكسدي للأحماض الكيتونية- α المتفرعة مماثلاً لتحويل البيروڤات إلى أسيتيل -CoA، ونزع هيدروجين ثيوأسترات أسيل -CoA المتفرعة مماثلاً لتفاعل في تقويض الأحماض الدهنية. وهناك ثلاثة تفاعلات نوعية بتقويض اللوسين، وأربعة بتقويض الڤالين، وثلاثة بتقويض الإيزولوسين. وتتضمن الاضطرابات الأيضية في تقويض الأحماض الأمينية متفرعة السلسلة كلاً من فرط ڤالين الدم وداء بول شراب القيقب والبيلة الكيتونية متفرعة السلسلة المتقطعة واحمضاض الدم بحمض الأيزوڤاليريك وبيلة حمض الميثيل مالونيك.

***References:**

Cooper AJL: Biochemistry of the sulfur-containing amino acids. *Annu Rev Biochem* 1983;52:137.

Harris RA et al: Molecular cloning of the branched-chain α-ketoacid dehydrogenase kinase and the CoA-dependent methylmalonate semialdehyde dehydrogenase. *Adv Enzyme Regul* 1993;33:255.

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed. McGraw-Hill, 1995.

Watanabe K et al: In situ determination of phenylpyruvate in urine using a phenylpyruvate-selective membrane electrode. *Anal Sci* (Japan) 1997;13:209.

الفصل الثالث والثلاثون

تحويل الأحماض الأمينية إلى نواتج متخصصة

Conversion of Amino Acids to Specialized Products

مقدمة:

يقدم هذا الفصل أمثلة عن التخليق الحيوي لمركبات نتروجينية مهمة، غير البروتينات مشتقة من الأحماض الأمينية. وبالإضافة إلى المواضيع المناقشة هنا، يلفت انتباه القارئ إلى العمليات المشروحة بالتفصيل في الفصول الأخرى من هذا الكتاب. وللاطلاع على هذه العمليات سيشار للقراء بمراجعة مواقع محددة في الفصول. لذلك فإن المادة تندمج مع السبل الأيضية المشروحة في أماكن أخرى من الكتاب.

الأهمية الطبية البيولوجية:

تتضمن النواتج المهمة فيزيولوجياً المشتقة من الأحماض الأمينية كلاً من الهيم والبورينات والبيريميدنات والهرمونات والنواقل العصبية والببتيدات النشيطة حيوياً. إضافة إلى ذلك، يحوي العديد من البروتينات أحماضاً أمينية جرى تعديلها لتقوم

بوظيفة نوعية، كارتباط الكالسيوم، أو كمتوسطات تعمل على تثبيت البروتينات، بخاصة البروتينات البنيوية عموماً، عن طريق ارتباط تصالبي تكافؤي (تساهمي) تال. وتعمل ثمالات الأحماض الأمينية في تلك البروتينات كطلائع لهذه الثمالات المعدّلة. وأخيراً هناك ببتيدات صغيرة أو جزيئات شبيهة بالببتيدات لا يتم تخليقها على الريباسات تنجز وظائف نوعية في الخلايا. ويلعب الهيستامين المتشكل من نزع كربوكسيل الهيستيدين دوراً رئيسياً في عدد من التفاعلات الأرجية (التحسسية). وتضم النواقل العصبية النوعية المشتقة من الأحماض الأمينية كلاً من γ- أمينو بوتيرات من الجلوتامات، و 5- هيدروكسي التريبتامين (السيروتونين) من التربتوفان، والدوبامين والنورإبينفرين والإبينفرين من التيروزين. وتؤثر الكثير من الأدوية المستخدمة في معالجة الحالات العصبية والنفسية في أيض النواقل العصبية المذكورة أعلاه.

يشترك الجليسين في التخليق الحيوي لمقترنات الجليسين والكرياتين والهيم والبورينات:

1 – المقترنات الجليسينية (Glycine Conjugates): يفرغ العديد من نواتج الأيض والصيدلانيات بشكل مقترنات جليسينية ذوابة في الماء. وتضم الأمثلة كلاً من الحمض الصفراوي المقترن «حمض الجليكوكوليك (Glycocholic Acid)» (الشكل 28-7)، وحمض الهيبوريك (Hippuric Acid) المتشكل من الإضافة الطعامية «البنزوات» (الشكل 33-1). ولقد استخدمت سعة الكبد على تحويل البنزوات إلى حمض الهيبوريك سابقاً في تقييم الوظيفة الكبدية. وبالإضافة للبنزوات، يفرغ عدد من الأدوية ومستقبلاتها التي تحوي زمر الكربوكسيل في البول بشكل مقترنات جليسينية.

2 – الكرياتين: يشتق الساركوزين (N -ميثيل الجليسين) وهو مكون الكرياتين، من الجليسين و S- أدينوزيل الميثيونين (الشكل 36-1).

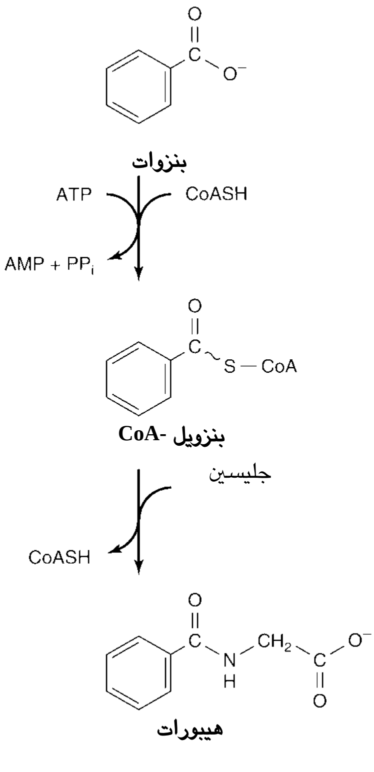
وتشتمل المواضيع المناقشة في أماكن أخرى من هذا الكتاب على ما يلي:

3 – الهيم: يسهم النتروجين والكربون – α من الجليسين في نتروجين وفي كل من الكربون– α لحلقات البيرول وبيكربونات الجسر الميثيليني بالهيم (الشكل 34-5). وقد نُوقشت الاضطرابات الأيضية في أيض الهيم (بالفصل 34).

4 – البورينات: يصبح جزيء الجليسين بكامله الذرات 4 و 5 و7 من البورينات (الشكل 36-1).

α– ألانين هو الحمض الأميني الرئيسي في البلازما:

يشكل α– ألانين والجليسين معاً جزءاً رئيسياً من النتروجين الأميني في بلازما البشر. أما في البكتريا، فيكون كل من L– ألانين و D– ألانين هما المكونان الرئيسان بالجدران الخلوية.



الشكل 33-1 : التخليق الحيوي للهيبورات.

تقوض الثدييات β ـ ألانين عن طريق المالونات نصف ألدهيد:

يوجد معظم β– ألانين نسج الثدييات على شكل تميم الإنزيم A (الشكل 52-6) وبشكل ثنائيات الببتيد β– ألانين، بشكل أساسي الكارنوزين (انظر لاحقاً). وحيث أن الكائنات الدقيقة تشكل β– ألانين بنزع الكربوكسيل – α– من الأسبارتات، فإن β– ألانين في نسج الثدييات تنشأ كمقوض (ناتج تقويض) للسيتوزين (الشكل 16-36) والكارنوزين والأنسيرين (الشكل 33-2). وتقوم أنسجة الثدييات بنقل أمين β– ألانين، فيتشكل المالونات نصف ألدهيد، التي تؤكسد إلى الأسيتات، ومن ثم إلى CO_2. وفي الاضطراب الأيضي النادر، فرط β– ألانين الدم، ترتفع مستويات كل من β– ألانين والتورين و β– أمينو إيزوبوتيرات في سوائل الجسم والأنسجة.

الكارنوزين هو ثنائي ببتيد β ـ ألانين:

يوجد الكارنوزين، وهو ثنائي ببتيد β– ألانين (الشكل 33-2)، في العضلات الهيكلية عند الإنسان، ولا يوجد في العضلة القلبية، وعندما يوجد عند الإنسان، فإن الأنسيرين (N- ميثيل الكارنوزين) (الشكل 33-2)، يكون مشتقاً من الغذاء لأنه يوجد في العضلات المتميزة بفعالية انقباضية سريعة (كعضلات أطراف الأرنب وعضلات الصدر عند الطيور). وبذلك فإن الأنسيرين يقوم بوظائف فيزيولوجية متميزة عن تلك التي للكارنوزين. ويدرأ β– الأنيل ـ إيميدازول باهاء (pH) العضلات الهيكلية القلوصة لا هوائياً. وينشِّط الكارنوزين والأنسيرين فعالية أتباز الميوسين ـ أتباز. ويقوم كلا الببتيدين أيضاً باستخلاب النحاس وتعزيز قبطه.

تقوم سبل قصيرة بتخليق ثنائيات ببتيد β ـ ألانين وتدركها:

يحفز التخليق الحيوي للكارنوزين (الشكل 33-2) بإنزيم سنتيتاز الكارنوزين. ويتضمن التفاعل ثنائي المرحلة في البداية تشكيل أسيل ـ أدينيلات الـ β– ألانين المرتبط بالإنزيم. ويتشكل الكارنوزين بالنقل التالي للجزء β– ألانين إلى L– هيستيدين.

ATP + ألانين – β ⟶ ألانين –β– AMP + PPI

ألانين –β– AMP + هيستيدين –L ⟶ كارينوزين + AMP

تستخدم بعض الحيوانات، عدا الإنسان، S - أدينوزيل الميثيونين لمثيلة الكارنوزين، ويحفز هذا التفاعل بناقلة N – ميثيل الكارنوزين.

أنسيرين + S – أدينوزيل هوموسيستيين ⟵ كارنوزين + S– أدينوزيل ميثيونين

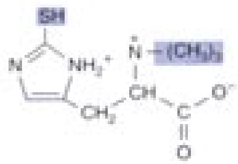
تحفز حلمهة الكارنوزين إلى β– ألانين و L – وهيستيدين بوساطة الكارنوزيناز (Carnosinase) (هيدرولاز الكارنوزين). ويمتلك الإنسان نظيرين إنزيميين للكارنوزيناز لهما خصائص مختلفة. فأحدهما يوجد في المصل والآخر في العصارة الخلوية في أغلب الأنسجة.

يتميز الاضطراب الوراثي، عوز الكارنوزيناز، ببيلة الكارنوزين التي تستمر حتى بعد استبعاد الكارنوزين من الغذاء.

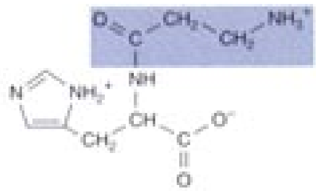
الهوموكارنوزين هو ثنائي ببتيد في الجهاز العصبي المركزي:

يوجد الهوموكارنوزين (Homocarnosine) في دماغ الإنسان، حيث يتباين تركيزه بين المناطق (الشكل 32-2)، وهو يشبه الكارنوزين بنيوياً وأيضياً، لكنه يوجد في دماغ الإنسان بمستويات أكبر بنحو 100 مرة من مستويات الكارنوزين. ويحفز تخليق الهوموكارنوزين في النسيج الدماغي بسنتيتاز الكارنوزين. إلا أن كارنوزيناز المصل لا تحلمه الهوموكارنوزين.

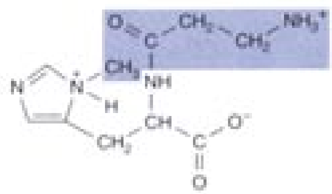
إن داء الهوموكارنوزين اضطراب وراثي نادر للغاية وربما يكون ناجماً عن عوز كارنوزيناز المصل، يترافق بشلل سفلي تشنجي متقدم وتخلف عقلي.



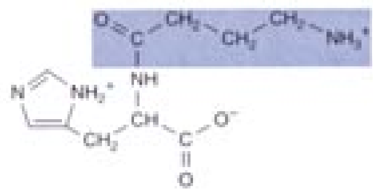
إرجوثيونين



كارنوزين



أنسيرين



هوموكارنوزين

الشكل 33-2 : المركبات ذات الصلة بالهيستيدين. إن الأجزاء ضمن المستطيلات غير مشتقة من الهيستيدين. وتشتق زمرة SH في الإرجوثيونين من السيستيين.

توجد ثمالات الفسفوسيريل والفسفوتريونيل والفسفوتيروزيل في البروتينات:

إن أكثر السيرين الموجود في البروتينات الفسفورية يكون على شكل *O*– فسفوسيرين. ويوجد الثريونين والتيروزين أيضاً في بعض البروتينات بشكل *O* –

فسفوتريونين وفسفو الثيروزين على الترتيب. ويوجد فسفو الهيستيدين كذلك عند المقر الفعال للإنزيمات ـ مثل الفسفوجليسيروموتاز.

تقوم الفسفتة العكسية (بإنزيمات الكيناز البروتيني) والنزع اللاحق للفسفات (بإنزيمات فسفاتاز البروتين) لثمالات مفسفتة نوعية بوظائف تنظيمية مهمة. وتحقق الفسفتة تبدلات سريعة في فعالية الإنزيمات الأيضية الأساسية مما يؤدي إلى تحكم عكسي وسريع وملائم تماماً بتدفق نواتج الأيض خلال سبل التخليق الحيوي والتدرك، مثل تلك في سبل أيض السكريات والشحميات والتنبيج الإشاري.

يشترك السيرين في التخليق الحيوي للسفنجوزين (Sphingosine) (الفصل 26-2)، وللبورينات والبيريميدينات أيضاً، حيث يوفر كربونه β– الزمر الميثيلية للثيمين (وللكولين) والكربونين 2 و 8 للبورينات (الشكل 36-2).

نظراً لأنه أمين الثريونين لا ينقل فإنه لا يمكن استعمال حمضه الكيتوني–α ولا D– الثريونين من قبل الثدييات.

يوفر S ـ أدينوزيل الميثيونين الزمر الميثيلية للتخليق الحيوي:

يعد S–أدينوزيل الميثيونين المصدر الأساسي لزمر الميثيل في الجسم، إضافة إلى أنه يسهم في التخليق الحيوي للأجزاء 3– ثنائي أمينو البروبان في عديدات الأمين: السبيرمين (Spermime) والسبيرميدين (Spremidine) (الشكل 33-5).

تشتق السلفات البولية من السيستين:

تنشأ السلفات البولية في النهاية من أكسدة L– سيستيين بشكل كامل تقريباً. إلا أنه ينقل كبريت الميثيونين، بشكل هوموسيستيين، إلى السيرين (الشكل 30-9)، وبذلك يسهم في السلفات البولية بشكل غير مباشر، أي عن طريق السيستيين. يعمل L– سيستيين كطليعة لجزء الثيوإيتانولامين في التميم الإنزيمي A وللتورين الذي يقترن بالأحماض الصفراوية، كحمض التوروكوليك (الشكل 28-7).

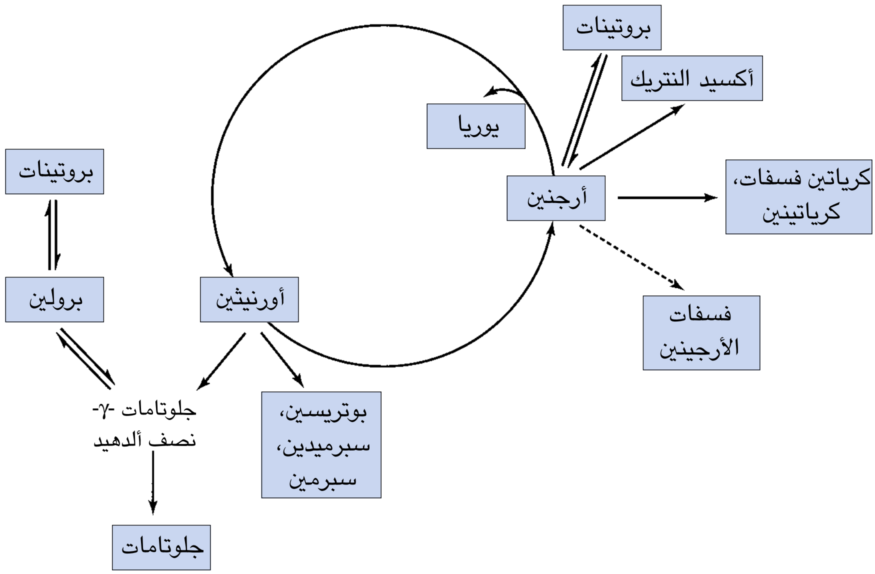
يتشكل الهيستامين عن نزع كربوكسيل الهيستيدين:

يؤدي نزع كربوكسيل الهيستيدين إلى تشكيل الهيستامين، ويحفز هذا التفاعل في أنسجة الثدييات بنازعة كربوكسيل الأحماض الأمينية– L العطرية التي تتمتع بنوعية واسعة، وهي تحفز أيضاً نزع كربوكسيل الدوبا و 5– هيدروكسي تربتوفان والفينيل ألانين والتيروزين والتربتوفان (انظر فيما بعد). وتجد الأحماض الأمينية الميثيلية – α، التي تثبط فعالية نازعة الكربوكسيل، لنفسها تطبيقاً سريرياً كعوامل مضادة لفرط ضغط الدم. وهناك إنزيم مختلف، هو نازعة كربوكسيل الهيستيدين، يوجد في معظم الخلايا، يحفز أيضاً نزع كربوكسيل الهيستيدين.

تضم مركبات الهيستيدين الموجودة في جسم الإنسان كلاً من الإرجوثيونين والكارنوزين والأنسيرين الغذائي (الشكل 33-2). ويشتق 1– ميثيل الهيستيدين في بول الإنسان على الأغلب من الأنسيرين. ويكون 3– ميثيل الهيستيدين الموجود في بول الإنسان السوي بتركيز 50 مجم/100 مل تقريباً منخفضاً على نحو غير عادي في بول المصابين بداء ولسون [Wilson's] (الفصل 59).

الأورنثن ومن ثم الأرجينين يشكلان متعددات الأمين:

يعد الأرجينين مانحاً للفورماميدين في تخليق الكرياتين عند الرئيسات (الشكل 33-10)، وفي تخليق الستربتوميسين في جراثيم المتسلسلة (Streptomyces). وتضم المصائر الأخرى التحول عن طريق الأورنيتين إلى البوتريسين والسبيرمين والسبيرميدين (الشكل 33-3)، وفي عضلات اللافقاريات إلى فسفات الأرجينين، الذي تكون وظيفته كمدخر للفسفات عالية الطاقة مماثلة لتلك التي لفسفات الكرياتين في عضلات الفقاريات. ويعمل L– الأرجينين أيضاً كطليعة لأكسيد النتريك (NO)، وهو جزيء الإشارة داخل الخلوية. ويعمل الـ NO كناقل عصبي ومرخ للعضلات الملساء وموسع وعائي. ويتضمن تحول L– أرجينين إلى NO، بتحفيز سنتاز الـ NO، تفاعلاً معتمداً على NADPH لـ L– أرجينين مع O_2 ليعطي L – سيترولين و NO (الفصل 58). بالإضافة إلى دوره في التخليق الحيوي لليوريا (الفصل 31).



الشكل 33-3 : أيض الأرجنين والأورنيثين والبرولين. تجري كل التفاعلات المؤشرة بأسهم عادية في أنسجة الثدييات، في حين يجري تخليق البوتريسين والسبيرمين عند كل من الثدييات والبكتريا. تعمل فسفات الأرجنين في عضلات اللافقاريات كمضاهئ فسفاجيني للكرياتين فسفات في عضلات الثدييات.

يعمل الأورنيثين (مع الميثيونين) طليعة لعديدات الأمين الموجودة في كل أنواع الثدييات والجراثيم، السبيرميدين والسبيرمين (الشكل 33-4). ويقوم الإنسان بتخليق 0.5 ممول تقريباً من السبيرمين يومياً. ويؤدي كل من السبيرميدين والسبيرمين وظيفتهما في مختلف العمليات الفيزيولوجية ذات الصلة الدقيقة بالنسبة لتكاثر الخلايا ونموها. وهي تعد عوامل للنمو في مستنبتات خلايا الثدييات والبكتريا، وتعمل على استقرار الخلايا السليمة والعضيات دوين الخلوية والأغشية. وتكون الجرعات الدوائية من عديدات الأمين خافضة للحرارة ولضغط الدم. ونظراً لأنها تحمل عدة شحنات إيجابية، فإن عديدات الأمين ترتبط بسهولة مع عديدات الأنيون مثل الدنا DNA والرنا RNA، وقد تنبه كلاً من التخليق الحيوي للدنا DNA

و الرنا RNA، واستقرار الدنا DNA وتعليب الدنا DNA في العاثيات الجرثومية. وتظهر عديدات الأمين أيضاً تأثيرات متنوعة في تخليق البروتينات وتثبط بعض الإنزيمات، ومنها إنزيمات الكيناز البروتيني.

لقد اقترحت بعض التجارب أن عديدات الأمين أساسية في الأيض عند الثدييات. فبإضافة مثبطات نازعة كربوكسيل الأورنيثين إلى خلايا الثدييات المستنبتة (مثل α– ميثيل الأورنيثين أو ثنائي فلوروميثيل الأورنيثين)، يقوم الإنزيم الذي يحفز التفاعل الأولي في التخليق الحيوي لعديدات الأمين (الشكل 33-5) بتحريض الإنتاج الزائد لنازعة كربوكسيل الأورنيثين. وهذا يفترض وجود دور فيزيولوجي أساسي لهذا الإنزيم، الذي وظيفته الوحيدة المعروفة هي في التخليق الحيوي لعديدات الأمين.

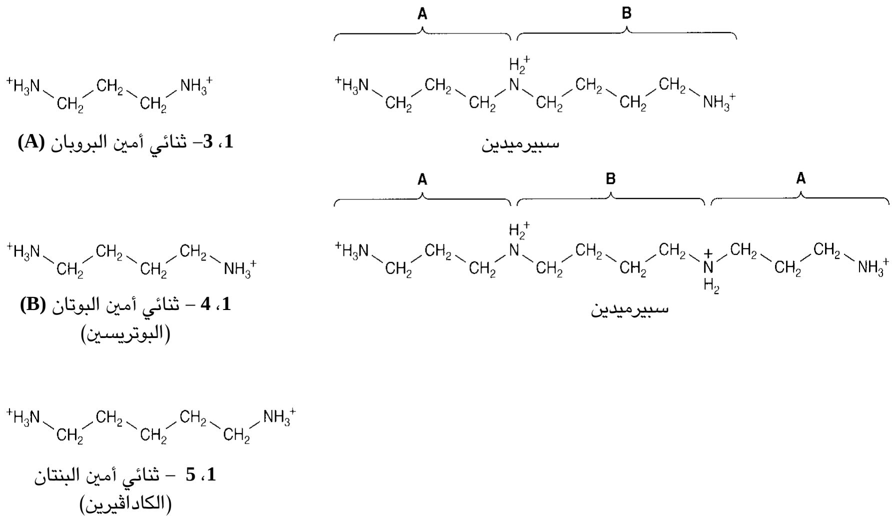
إن عديدات الأمين مهمة في نمو الخلية والأنسجة:

يوجز الشكل 33-5 عملية التخليق الحيوي لعديدات الأمين في أنسجة الثدييات. ويشتق جزء البوتريسين في كل من السبيرميدين والسبيرمين من L– أورنيثين، وجزء ثنائي أمينو البروبان من L– ميثيونين عن طريق S– أدينوزيل الميثيونين. وتعد كل من نازعة كربوكسيل الأورنيثين ونازعة كربوكسيل S– أدينوزيل الميثيونين إنزيمات قابلة للتحريض ذات أعمار نصفية قصيرة. وخلافاً لذلك، لا تكون إنزيمات سنتاز السبيرميدين والسبيرمين إنزيمات قابلة للتحريض ولا عطوبة على نحو غير عادي.

ومن بين إنزيمات التخليق الحيوي لعديدات الأمين عند الثدييات إثنان، هما: نازعة كربوكسيل الأورنيثين ونازعة كربوكسيل -S أدينوزيل الميثونين، يحظيان بأهمية فيما يتعلق بتنظيمهما وفعلهما في المعالجة الكيميائية الموجهة بالإنزيمات. ويبلغ العمر النصفي لنازعة كربوكسيل الأورنيثين، نحو 10 دقائق وهو من بين أقصر الأعمار النصفية لأي إنزيم عند الثدييات، وتستجيب فعاليته بسرعة وبشكل مفاجئ تجاه العديد من المنبهات. وتحدث زيادة من 10 إلى 200 ضعفاً في فعالية نازعة كربوكسيل الأورنيثين بعد إعطاء هرمون النمو أو الستيرويدات القشرية أو

التستوستيرون أو عامل النمو البشروي إلى مستنبت لخلايا الثدييات. وتقوم عديدات الأمين المضافة للمستنبتات الخلوية بتحريض تخليق بروتين يثبِّط فعالية نازعة كربوكسيل الأورنيثين.

تحوي نازعة كربوكسيل S– أدينوزيل الميثيونين بيروفات مرتبطة بدلاً من البيريدوكسال فسفات كتميمها العامل، ولها عمر نصفي يبلغ 1-2 ساعة وتستجيب لمحرضات النمو الخلوي بأسلوب مشابه نوعياً لنازعة كربوكسيل الأورنيثين. وتثبِّط نازعة كربوكسيل S–أدينوزيل الميثيونين (الشكل 33-5) بـ S– أدينوزيل الميثيونين منزوع الكربوكسيل، وتنشط بالبوتريسين.



الشكل 33-4 : بُنى متعددات الأمين الطبيعية. لاحظ أن السبيرميدين والسبيرمين هما مكثوران من ثنائي أمين البروبان (A)؛ وثنائي أمين البوتان (B).حيث يوجد ثنائي أمين البنتان (الكاداڤيرين) في أنسجة الثدييات أيضاً.

تفرغ مقوضات عديدات الأمين في البول:

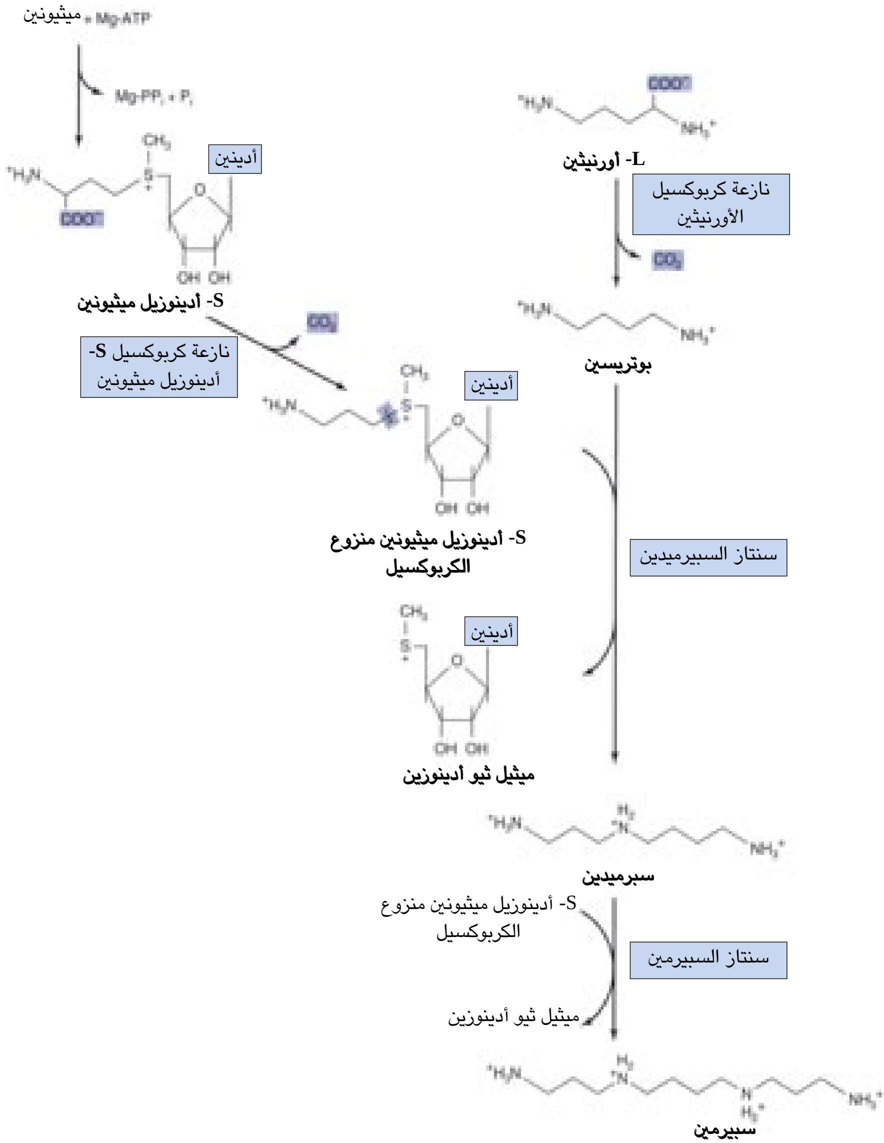
يوجز الشكل 33-6 تقويض عديدات الأمين في أنسجة الثدييات؛ حيث يقوم أكسيداز عديدات الأمين في الجسيمات البيروكسية الكبدية بأكسدة السبيرمين إلى السبيرميدين، الذي يؤكسد بعد ذلك إلى بوتريسين. وتتحول أجزاء الأمينوبروبان في كليهما إلى β– أمينو بروبيون ألدهيد. ثم يؤكسد البوتريسين جزئياً إلى CO_2 و NH_4^+. ويفرغ جزء كبير من البوتريسين والسبيرميدين في البول كمقترنات، بشكل أساسي، كمشتقات للأسيتيل.

التربتوفان يشكل السيروتونين:

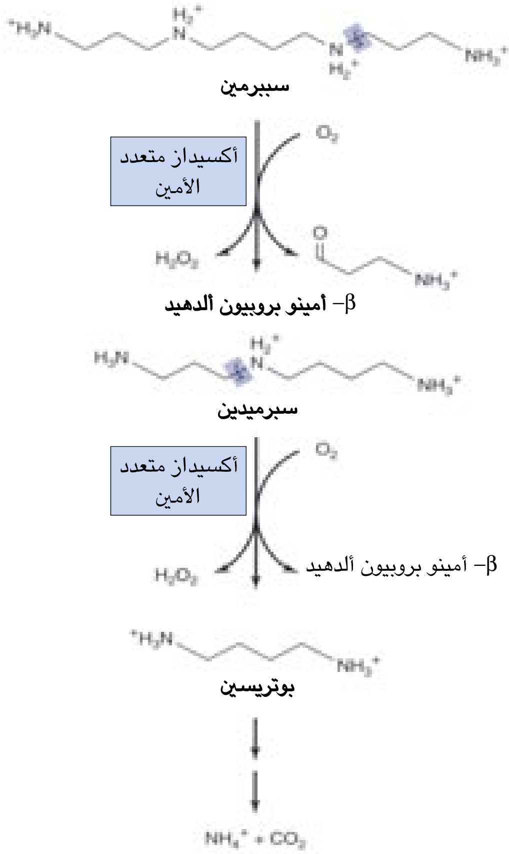
تحفز هدرلة التربتوفان إلى 5 – هيدروكسي التربتوفان بوساطة هيدروكسيلاز التيروزين الكبدية. ثم ينزع الكربوكسيل فيتشكل السيروتونين (Serotonin) (5– هيدروكسي التريبتامين)، وهو مضيق وعائي قوي ومنبه لتقلص العضلات الملساء (الشكل 33-7). ويبدأ تقويض السيروتونين بنزع أمينه تأكسدياً بتحفيز أكسيداز أحاديات الأمين فيتشكل 5– هيدروكسي إندول أسيتات (الشكل 33-7)، الذي يفرغه الإنسان في بوله (2-8 مجم/100مل). ويعزى التنبيه النفسي الذي يحدث بعد إعطاء الإيبرونيازيد (Iproniazid) إلى قدرته على إطالة تأثير السيروتونين بثبيط أكسيداز أحاديات الأمين.

يرفع الداء السرطاوي الخبيث إنتاج السيروتونين:

يحدث في الداء السرطاوي (ورم أليف الفضة)، أن تقوم الخلايا الورمية المنتجة للسيروتونين، في نسيج جوف البطن الأليف للفضة، بإنتاج السيروتونين بشكل مفرط. وتوجد مقوضات السيروتونين في بول المصابين بالداء السرطاوي وهي تضم جلوكورونيد N– أسيتيل السيروتونين والمقترن الجليسيني لـ 5– هيدروكسي إندول أسيتات و 5– هيدروكسي إندول أسيتورات. ونظراً لأن تعزيز تحول التربتوفان إلى سيروتونين ينقص تخليق حمض النيكوتينيك، لذلك فإن المصابين بالداء السرطاوي قد يظهرون أعراض البلاجرة.



الشكل 33-5 : المتوسطات والإنزيمات المشاركة في التخليق الحيوي للسبيرميدين والسبيرمين.
لقد اختصرت الزمر الميثيلينية لتسهيل رؤية العملية ككل.



الشكل 33-6 : تقويض متعددات الأمين. جرى اختصار البنى لتسهيل متابعة المخطط.

السيروتونين يشكل الميلاتونين:

تشكل الأستلة –N للسيروتونين، المتبوعة بالمثيلة –O في الجسم الصنوبري، الميلاتونين (Melatonin) (الشكل 33-7). وتجري كذلك مثيلة مباشرة للسيروتونين

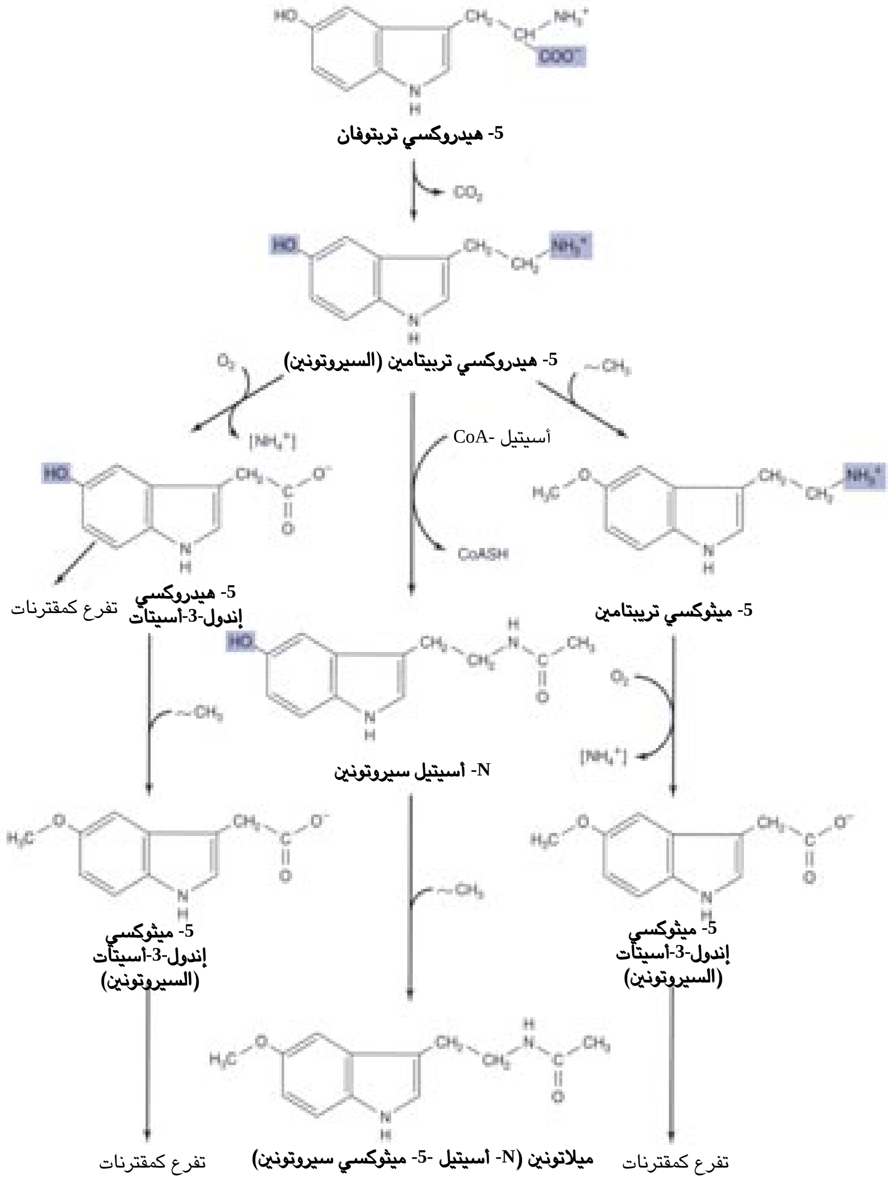
و 5– هيدروكسي إندول أسيتات (الشكل 33-7). ويستقلب السيروتونين و 5– ميثوكسي تريبتامين إلى الحمضين الموافقين بوساطة أكسيداز أحاديات الأمين. وتقوم كافة الأنسجة، ومنها الدماغ، بقبط الميلاتونين الدوراني، لكنه يتأيض بسرعة بالهدرلة عند الموضع 6، ويلي ذلك الاقتران مع السلفات أو مع حمض الجلوكورونيك.

تفرغ نواتج الأيضية التربتوفان في البول والبراز:

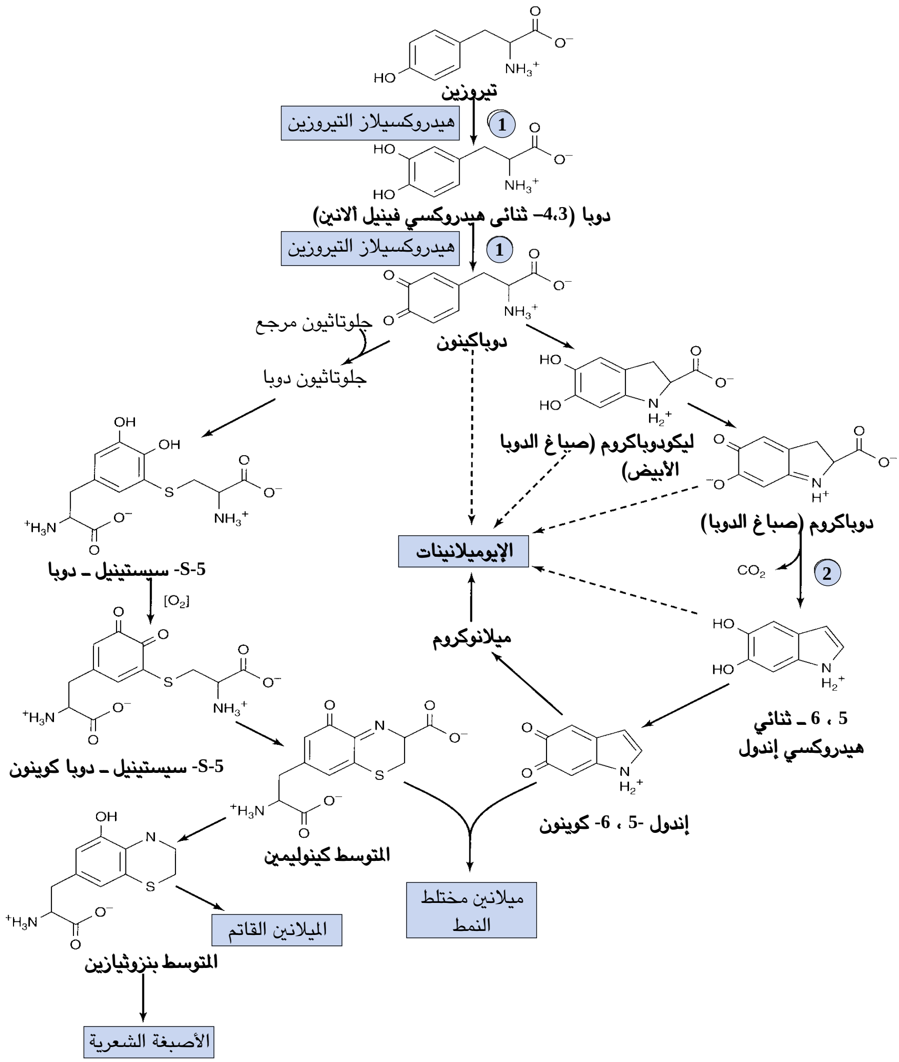
يشكل التربتوفان مشتقات إندولية أخرى (الشكل 33-7). وتقوم الكلية والكبد عند الثدييات وجراثيم البراز لدى الإنسان بنزع كربوكسيل التربتوفان وتشكيل التريبتامين، الذي تؤدي أكسدته إلى تشكيل الإندول –3– أسيتات. وتكون المقوضات البولية السوية الأساسية للتربتوفان هي 5– هيدروكسي إندول أسيتات وإندول –3– أسيتات.

الميلانينات هي مكاثير لمقوضات التيروزين:

يوجز الشكل 33-8 المتوسطات المعروفة في التخليق الحيوي للإيوميلانين (الميلانين الحقيقي: Eumelanin)، والفيوميلانين (الميلانين القاتم: Pheomelanin) في جسيمات الميلانين المرتبطة بأغشية الخلايا الصباغية (الخلايا الميلانية). ويحفز التفاعل الأولي بهيدروكسيلاز التيروزين، وهو إنزيم معتمد على النحاس. ويعتقد أن مكثور الميلانين الحقيقي المتنامي يلتقط الجذور الحرة، ويخضع لتدرك جزئي بالـ H_2O_2 المتولد أثناء عملية الأكسدة الذاتية. ثم تشكل الفيوميلانينات والإيوميلانينات معقدات مع بروتينات مطرس جسيمات الميلانين مشكلة البروتينات الميلانية.



الشكل 33-7 : التخليق الحيوي للميلاتونين وأيضه. $[NH_4^+]$ (بوساطة نقل الأمين؛ MAO: أكسيداز أحاديات الأمين).



الشكل 8-33 : المتوسطات والتفاعلات المعروفة في التخليق الحيوي للميلانين الحقيقي (إيوميلانين Eumelanin) وللميلانين القاتم (فيوميلانين Pheomelanin) تحوي مكاثير الميلانين كلاً من الميلانين الحقيقي والقاتم بنسب مختلفة. تشير الأسهم الغامقة إلى المتوسطات المساهمة في تخليق الميلانينات الحقيقية بنسب متباينة. وتشير الأرقام ضمن الدوائر إلى التفاعلات المرجح أنها منظمة في سبيل التخليق الحيوي. يجري تحفيز التفاعل 1 بالتيروزيناز والذي يكون معيباً في المهق العيني ـ الجلدي سلبي التيروزيناز.

يترافق المهق مع اضطراب التخليق الحيوي للميلانين:

يتضمن مصطلح المهق (Albinism) طيفاً من المتلازمات السريرية التي تتميز بنقص الميلانين الناجم عن عيوب وراثية في الخلايا الميلانية في العين والجلد. وحيث أنه يمكن التمييز بين كل الأشكال العشر من المهق العيني الجلدي عند الإنسان، اعتماداً على خصائصها السريرية والكيميائية الحيوية والوراثية والبنيوية المستدقة، فإن جميعها تتضمن نقصاً بانصباغ الجلد والعينين. وسيناقش عدد منها فيما بعد.

يفتقر المصابون بالمهق سلبي ـ هيدروكسيلاز التيروزين إلى كل الصباغ البصري. وتخفق بصلات شعر هؤلاء المرضى في تحويل التيروزين المضاف إلى صباغ، وتحوي الخلايا الميلانية جسيمات ميلانيي غير منصبغة.

يكون لدى المصابين بالمهق إيجابي ـ هيدروكسيلاز التيروزين بعض الصباغ البصري وشعر بلون أبيض مصفر عند تعرضه للضوء. وقد تحوي الخلايا الميلانية لبصلات شعرهم جسيمات ميلانية قليلة الانصباغ، والتي تحول التيروزين إلى إيوميلانين حقيقي أسود في المختبر (in vitro). يحدث المهق العيني كخلة مرتبطة بالكروموسوم X على حد سواء. وتحوي الخلايا الميلانية عند المصابين بالمهق العيني المرتبط بالكروموسوم X والمتغايري الزيجوت (لكن ليس الصبغي الجسدي المتنحي) جسيمات ميلانية كبيرة. وتبدي الشبكية عند الإناث متغايرات الزيجوت بالنسبة للمهق العيني المرتبط بالكروموسوم X نمط (Nettleship) طرازاً مزيقاً لتوزع الصباغ ناجماً عن تعطيل الكروموسوم X عشوائياً. وما تزال العيوب الأيضية الدقيقة المؤدية لنقص الميلانين في المهق العيني غير معروفة.

يشكل التيروزين كلاً من الإبينفرين والنورابينفرين:

تحول الخلايا ذات المنشأ العصبي التيروزين إلى إبينفرين ونورإبينفرين (الشكل 33-9). وفي حين يكون الدوبا هو متوسط في تشكيل كل من الميلانين (الشكل 33-8) والنورإبينفرين (الشكل 33-9)، فإن إنزيمات مختلفة تقوم بهدرلة التيروزين في الخلايا الميلانية وأنماط خلوية أخرى. وتشكل نازعة كربوكسيل الدوبا الدوبامين،

وهو إنزيم معتمد على البيبريدوكسال فسفات. وبحدوث هدرلة إضافية بوساطة β– أكسيداز الدوبامين، الإنزيم المعتمد على النحاس والذي يحتاج للفيتامين C، يتشكل النورإبينفرين. وتستعمل ناقلة N– ميثيل فينيل الإيثانولامين، في لب الكظر، S– أدينوزيل الميثيونين لمثيلة الأمين الأولي بالنورإبينفرين، مشكلة الإبينفرين (الشكل 33-9). إن التيروزين طليعة للهرمونات الدرقية، ثلاثي يود الثيرونين والثيروكسين أيضاً (انظر الفصل 46).

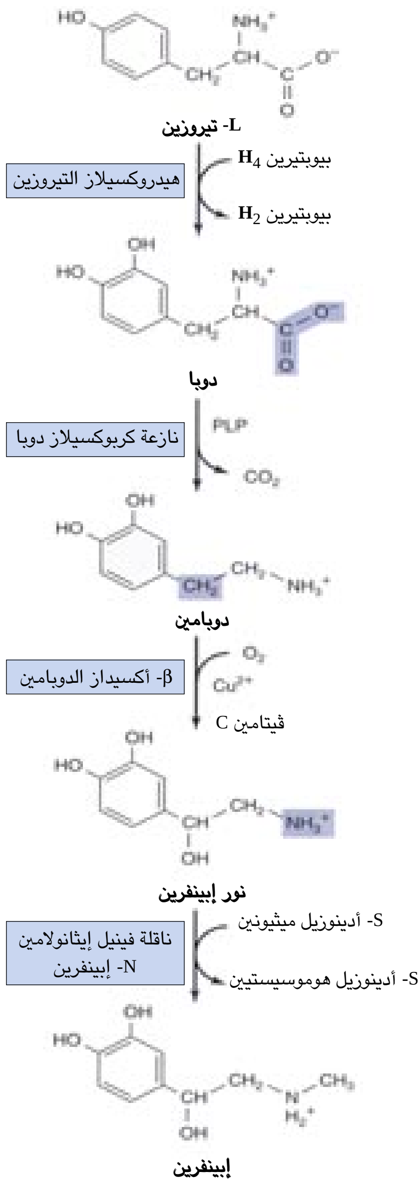
إفراغ الكرياتينين وظيفة للكتلة العضلية:

يوجد كل من الكرياتين وشكله المدخر للطاقة الفسفوكرياتين في العضلات والدماغ والدم. ويتشكل الكرياتينين (أنهيدريد أو بلا ماء الكرياتين) في العضلات من فسفات الكرياتين بنزع الماء لا إنزيمياً وبشكل عكسي مع خسارة الفسفات (الشكل 33-10). ويكون إفراغ الكرياتينين في بول 24 ساعة عند فرد معين ثابتاً بشكل واضح من يوم لآخر، ويتناسب مع الكتلة العضلية. وتوجد أيضاً كمياتٌ زهيدة من الكرياتين بشكل سوي في البول.

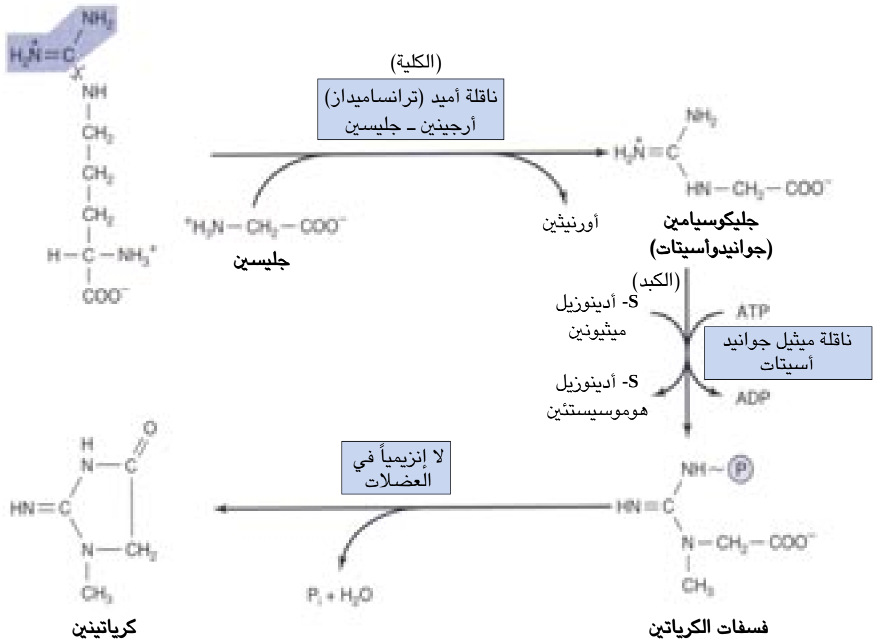
يسهم كل من الجليسين والأرجينين والميثيونين في التخليق الحيوي للكرياتين. ويجري نقل زمرة الجوانيدينو من الأرجينين إلى الجليسين، فيتشكل الجوانيدو أسيتات (الجليكوسيامين) ويتم ذلك في الكلية وليس في الكبد أو في عضلة القلب. ويتكامل تخليق الكرياتين بمثيلة الجوانيدو أسيتات بوساطة S– أدينوزيل الميثيونين في الكبد (الشكل 33-10).

تشكيل γ- أمينوبوتيرات وتقويضها:

على الرغم من أن حمض γ– أمينوبوتيريك (GABA) يوجد في الكلية وخلايا الجزيرات البنكرياسية، إلا أنه يوجد بشكل أساسي في النسيج الدماغي، حيث يعمل كناقل عصبي مثبط (كابح) من خلال إحداث تبدل في فروق الكمون عبر الغشاء.



الشكل 9-33 : تحول التيروزين إلى الإبينفرين والنورإبينفرين في الخلايا العصبونية والكظرية. (PLP: بيريدوكسال فسفات).



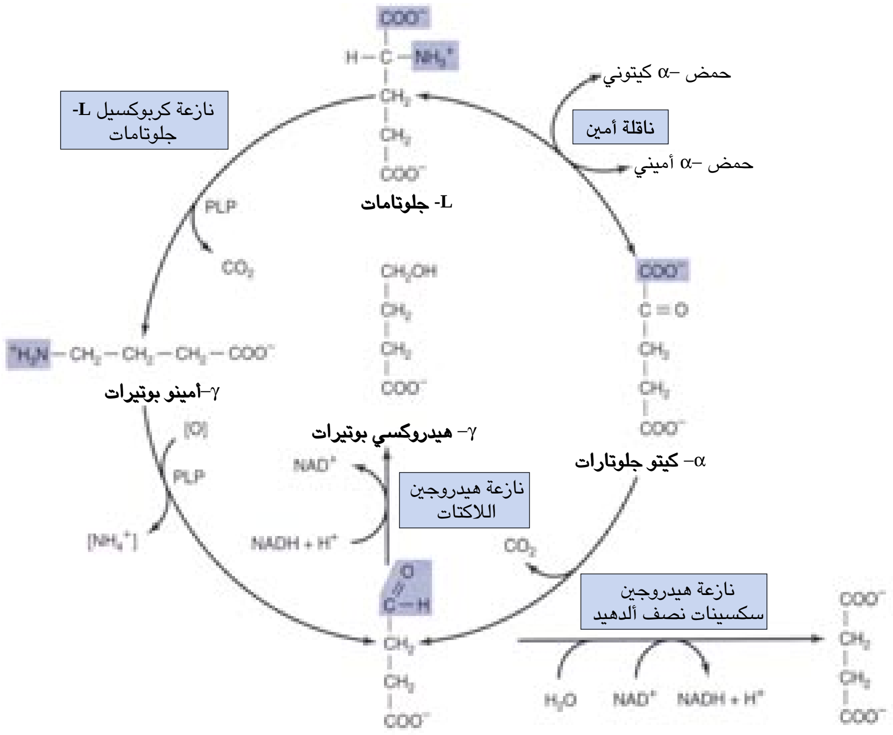
الشكل 33-10 : التخليق الحيوي للكرياتين والكرياتينين.

التخليق الحيوي:

يتشكل γ– أمينوبوتيرات (GABA) بنزع كربوكسيل L– جلوتامات، وهو تفاعل يحفز بإنزيم نازعة كربوكسيل L–جلوتامات المعتمد على البيريدوكسال فسفات (الشكل 33-11) يوجد في نسيج الجهاز العصبي المركزي، بشكل أساسي في المادة الرمادية. وهناك أيضاً سلسلتان من التفاعلات تحولان البوتريسين (الشكل 33-4) إلى γ– أمينوبوتيرات، إما بنزع الأمين بوساطة أكسيداز ثنائيات الأمين أو عن طريق المتوسطات المؤستلة N. وتتباين الأهمية النسبية لهذه الطرق الثلاث في التخليق الحيوي لـ γ – أمينوبوتيرات بين الأنسجة وحسب مرحلة النمو.

التقويض:

يؤدي نقل أمين γ– أمينوبوتيرات بتحفيز ناقلة أمين γ– أمينوبوتيرات، إلى تشكيل السكسينات نصف ألدهيد (الشكل 33-11)، التي يمكن أن تخضع بعد ذلك للإرجاع إلى γ– هيدروكسي بوتيرات، وهو تفاعل تحفّزه نازعة هيدروجين L- لاكتات، أو للأكسدة إلى السكسينات، ومن ثم عبر دورة حمض السيتريك إلى CO_2 و H_2O. هناك اضطراب وراثي نادر للغاية في أيض (GABA) يتضمن وجود ناقلة أمين معيبة للـ (GABA)، وهو الإنزيم الذي يسهم في تقويض (GABA) بعد أن يتحرر بعد المشبك في النسيج الدماغي.



الشكل 33-11 : أيض γ– أمينوبوتيرات. (PLP: بيريدوكسال فسفات).

الخلاصة:

بالإضافة إلى إنجازها لأدوار بنيوية ووظيفية نوعية في البروتينات وعديدات الببتيد، تسهم الأحماض الأمينية في عدد واسع من عمليات التخليق الحيوي المناقشة في هذا الكتاب. فعلى سبيل المثال، يشارك الجليسين في التخليق الحيوي للهيم والبورينات والكرياتين، ويقترن بالأحماض الصفراوية ونواتج الأيض البولية للعديد من الأدوية. وبالإضافة إلى أدوار السيرين في التخليق الحيوي للشحميات الفسفورية والسفنجوزين، فهو يوفر الكربونين 2 و 8 للبورينات والزمرة الميثيلية للثيمين. كما ويسهم مشتق الميثيونين: S– أدينوزيل الميثيونين، وهو مانح الزمرة الميثيلية للعديد من عمليات التخليق الحيوي، بشكل مباشر في التخليق الحيوي للسبيرمين والسبيرميدين. ويشكل كل من الجلوتامات والأورنيثين الناقل العصبي γ– أمينوبوتيرات (GABA). وينشأ كل من الثيوإيثانولامين في التميم الإنزيمي A، والتورين بحمض التوروكوليك والأحماض الصفراوية الأخرى المرتبطة بالتورين من السيستيين. ويؤدي نزع كربوكسيل الهيستيدين إلى تشكيل الهيستامين، في حين تشتق ثنائيات ببتيد عديدة من الهيستيدين والحمض الأميني غير البروتيني ومُقوَّض السيتوزين، أي β– ألانين. ويعمل الأرجينين كمانح للفورماميدين في التخليق الحيوي للكرياتين، ويسهم عن طريق الأورنيثين، في التخليق الحيوي لعديدات الأمين. ويعمل الأرجينين أيضاً كمصدر للنتروجين في تخليق حمض النتريك (NO). وتضم نواتج الأيض المهمة للتربتوفان كلاً من السيروتونين والميلانين. ويعمل المضيق الوعائي القوي، السيروتونين، بدوره كطليعة للميلاتونين. ويشكل التيروزين كلاً من الإبينفرين والنورإبينفرين، وتؤدي إضافة اليود له إلى تشكيل هرمون الغدة الدرقية.

*** References:**

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed.Mcgraw-Hill,1995.

Tabor CW, Tabor H: Polyamines. *Annu Rev Biochem* 1984;53:749.

الفصل الرابع والثلاثون

البورفيرينات والأصباغ الصفراوية

Prophyrins and Bile Pigments

مقدمة:

يعرض هذا الفصل الكيمياء الحيوية للبورفيرينات والأصباغ الصفراوية. وهذه المواضيع مرتبطة ببعضها ارتباطاً وثيقاً، لأنه يتم تخليق الهيم من البورفيرينات والحديد، كما أن نواتج تدرك الهيم هي الأصباغ الصفراوية والحديد.

الأهمية الطبية البيولوجية:

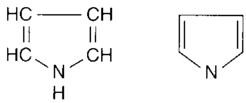
إن إدراك الكيمياء الحيوية للبورفيرينات والهيم أساسي لفهم الوظائف المتنوعة للبروتينات الهيمية (انظر فيما بعد) في الجسم. والبورفيريات (Porphyrias) هي مجموعة من الأمراض الناجمة عن شذوذات في سبيل التخليق الحيوي لمختلف البورفيرينات. وهي ليست منتشرة كثيراً، لكن على الأطباء أن يدركوها جيداً، وبخاصة أطباء الجلد والكبد وأمراض التنفس، الذين قد يصادفون مصابين بهذه الحالات. وهناك حالة سريرية منتشرة كثيراً هي اليرقان (Jaundice)، الذي ينجم عن ارتفاع البيليروبين في البلازما.

حيث أن هذا الارتفاع عائد إلى فرط إنتاج البيليروبين، أو إلى قصور في إفراغه، وهو يشاهد في أمراض عديدة، تتراوح من حالات فقر الدم الانحلالي إلى التهاب الكبد القيروس إلى سرطان البنكرياس.

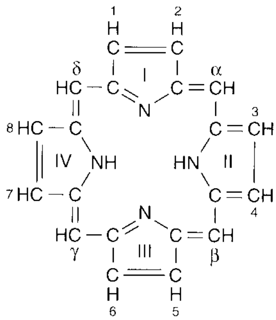
البورفيرينات المعدنية والبروتينات الهيمية مهمة في الطبيعة:

البورفيرينات مركبات حلقية، تتشكل بارتباط أربع حلقات بيرول عن طريق جسور ميثينيلية (–CH=، الشكل 34-1). والخاصية المميزة للبورفيرينات هي تشكيل معقدات مع أيونات معدنية مرتبطة بذرة النتروجين لحلقات البيرول. ومن الأمثلة نذكر بورفيرينات الحديد؛ كهيم الهيموجلوبين والبورفيرين الحاوي على مغنيزيوم الكلوروفيل (اليخضور)، وهو صباغ التركيب الضوئي في النباتات.

تتوزع البروتينات التي تحوي الهيم (البروتينات الهيمية) بشكل واسع في الطبيعة، ويبين (الجدول 34-1) أمثلة لأكثرها أهمية عند الإنسان والحيوان.



بيرول



بورفين
$(C_{20}H_{14}N_4)$

الشكل 34-1 : جزيء بورفين. أشير للحلقات بالأرقام I، II، III، IV. أما المواضع البديلة في الحلقة فأخذت الأرقام 1، 2، 3، 4، 5، 6، 7، 8. وأشير للجسور الميثيلينية (-HC=) بـ α، β، γ، δ.

البروتين	الوظيفة
الهيموجلوبين	نقل الأكسجين في الدم
الميوجلوبين	تخزين الأكسجين في العضلات
السيتوكروم c	الاشتراك في سلسلة نقل الإلكترونات
السيتوكروم P450	هدرلة الأجسام الغريبة بيولوجياً على الجسم
الكاتالاز	تدرك بيروكسيد الهيدروجين
بيرولاز التربتوفان	أكسدة التربتوفان

الجدول 34-1 : أمثلة عن بعض البروتينات الهيمية المهمة عند الإنسان والحيوان [1].

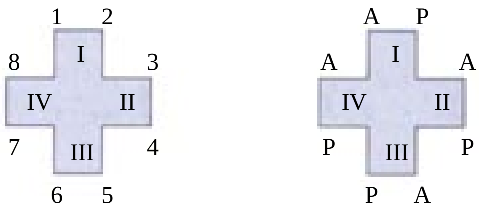
[1]– نوقشت وظائف البروتينات أعلاه في فصول متعددة من هذا الكتاب.

للبورفيرينات الطبيعية سلاسل جانبية بديلة على نواة البورفين:

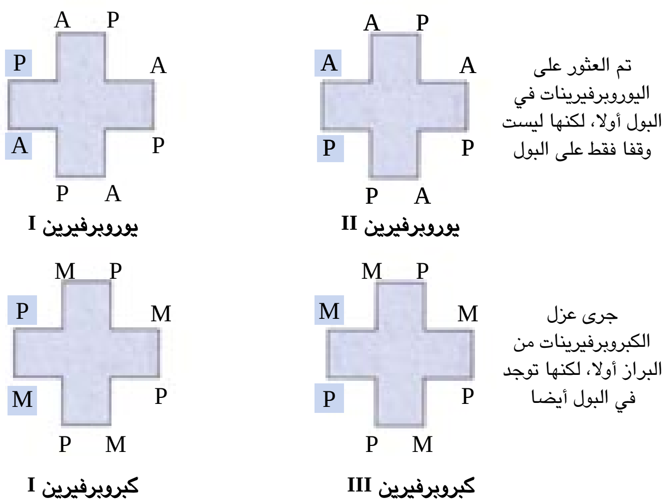
إن البورفيرينات الموجودة في الطبيعة مركبات تستبدل فيها السلاسل الجانبية المختلفة بثماني ذرات هيدروجين مرقمة في نواة البورفين كما هو مبين في الشكل 34-1. وقد اقترح فيشر (Fischer)، كوسيلة بسيطة لعرض هذه البدائل، صيغة مختصرة تحذف فيها الجسور الميثينيلية وتظهر فيها كل حلقة بيرول بشكل قوس مع ثمانية مواضع بديلة مرقمة كما هو مبين (الشكل 34-2). وتوضح (الأشكال 34-2 و 34-3 و 34-4) مختلف البورفيرينات.

يكون ترتيب البدائل: الأسيتات (A) والبروبيونات (P) في اليوروبورفيرين كما هو معروض في الشكل 34-2، بشكل لا متناظر (جرى في الحلقة IV عكس الترتيب المتوقع للبدائل A و P) ويصنف البورفيرين ذو هذا النمط من الاستبدال اللامتناظر كبورفين من النمط III. أما البورفيرين الذي يكون ترتيب البدائل فيه متناظراً تماماً فيصنف كبورفيرين من النمط I. ولا يوجد في الطبيعة سوى النمطين I و II، وتكون سلسلة النمط III أكثر سيادة بكثير (الشكل 34-3) وأكثر أهمية، لأنها تحوي الهيم.

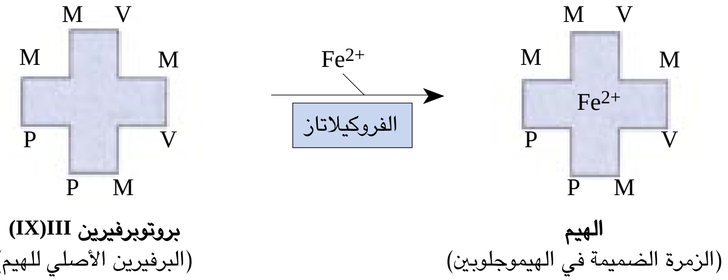
ينسب كل من الهيم وطليعته المباشرة البوروتوبورفيرين IX (الشكل 34-4)، إلى البورفيرينات من النمط III (أي تكون الزمر الميثيلية متوزعة بشكل لا متناظر، كما في الكوبروبورفيرين من النمط III). ومع ذلك فإنهما ينسبان أحياناً إلى السلسلة IX، لأنه كان يشار إليهما بالرقم التاسع في سلسلة من المصاوغات التي افترضها هانز فيشر الباحث الرائد في مجال كيمياء البورفيرينات.



الشكل 34-2 : ليوروبرفيرين III. A (أسيتات) = $–CH_2 COOH$؛ P (بروبيونات) – $CH_2 CH_2$- COOH.



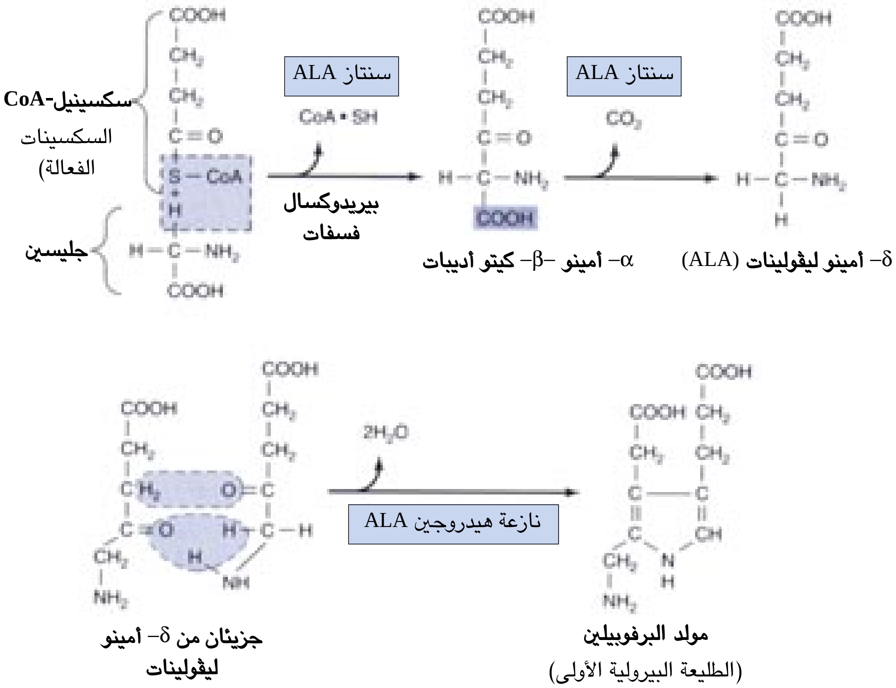
الشكل 34-3 :اليوروبرفيرينات والكبروبرفيرينات. A (أسيتات)؛ P (بروبيونات) ؛ M (ميثيل) = $–CH_3$؛ V (فينيل) =– $CH=CH_2$.



الشكل 34-4 : إضافة الحديد إلى البروتوبرفيرين لتشكيل الهيم.

يتم تخليق الهيم من السكسينيل -CoA والجليسين:

يخلق الهيم في الخلايا الحية بسبيل درس بشكل مستفيض. ومادتا البدء هما سكسينيل -CoA، المشتق من دورة حمض السيتريك في المتقدرات، والحمض الأميني الجليسين. وتكون البيريدوكسال فسفات ضرورية في هذا التفاعل لتنشيط الجليسين وناتج تفاعل التكاثف بين السكسينيل -CoA والجليسين هو حمض α– أمينو β– كيتوأديبيك، الذي ينزع منه الكربوكسيل بسرعة لتشكيل δ– أمينوليڤولينات (ALA) (الشكل 34-5). وتحفز سلسلة التفاعلات هذه بسنتاز ALA، الذي هو الإنزيم المتحكم بمعدل التخليق الحيوي للبورفيرين في كبد الثدييات. ويتم تخليق ALA في المتقدرات ثم يجري في العصارة الخلوية تكاثف جزيئين من ALA بوساطة إنزيم ديهدراتاز ALA فيتحرر جزيئان من الماء ويتشكل جزيء واحد من البورفوبيلينوجين (Porphobilinogen) (مولد البورفوبيلين PBG) (الشكل 34-5). إن ديهدراتاز ALA إنزيم يحوي الزنك وهو حساس للتثبيط بالرصاص، كما هو الحال عند التسمم بالرصاص.



الشكل 34-5 : التخليق الحيوي لمولد اليورفوبيلين. يوجد سنتاز ALA في المتقدرات، في حين توجد نازعة هيدروجين ALA في العصارة الخلوية.

يتم تشكيل رباعي البيرول الحلقي، أي البورفيرين، بتكاثف أربع جزيئات من PBG (الشكل 34-6). حيث تتكاثف هذه الجزيئات الأربعة بأسلوب الرأس إلى الذيل، لتشكيل رباعي بيرول خطي هو هيدروكسي ميثيل بيلان. ويحفز هذا التفاعل بسنتاز مولد اليوروبورفيرين I، ويطلق على هذا الإنزيم أيضاً نازعة أمين الـ PBG. ويتحلق هيدروكسي ميتيل بيلان بشكل تلقائي لتشكيل مولد اليوروبورفيرين I (الجانب الأيسر من الشكل 34-6) أو يتحول إلى مولد اليوروبورفيرين III بفعل كوسنتاز (Cosynthase) مولد اليوروبورفيرين III (الجانب الأيمن من الشكل 34-6). وفي الشروط السوية، يكون مولد اليوروبورفيرين المتشكل هو تقريباً حصراً المصاوغ III، لكن في بعض حالات البورفيرية (المناقشة لاحقاً) تتشكل مصاوغات من النمط I لمولد البورفيرين بكميات مفرطة.

لاحظ أن كل من مولدات اليوروبورفيرين هذه لها حلقات بيرولية متصلة بجسور ميثيلينية ($-CH_2-$) لا تشكل جملة حلقية مقترنة. وبذلك تكون هذه المركبات (مثلها مثل كافة مولدات البورفيرين) عديمة اللون. إلا أن مولدات البورفيرين تتأكسد ذاتياً بسهولة إلى ما يقابلها من بورفيرينات ملونة. وتحفز عمليات الأكسدة هذه بالضوء وبالبورفيرينات التي تتشكل.

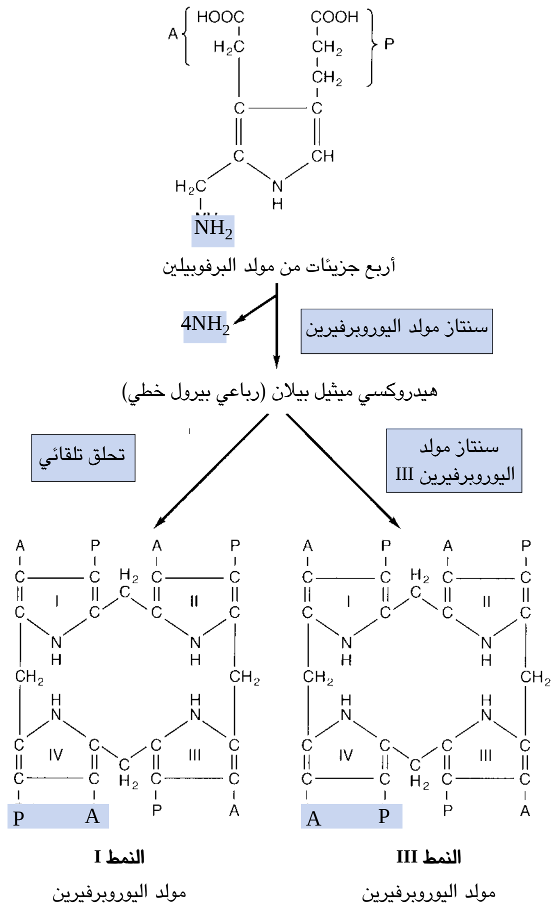
يتحول مولد اليوروبورفيرين III إلى مولد الكوبروبورفيرين III بعملية نزع كربوكسيل كافة زمر الأسيتات (A)، والتي تغيرها إلى بدائل ميثيلية (M). ويحفز التفاعل بنازعة كربوكسيل مولد اليوروبورفيرين التي يستطيع أيضاً تحويل مولد اليوروبورفيرين I إلى مولد الكوبروبورفيرين I (الشكل 34-7). ثم يدخل مولد الكوبروبورفيرين III إلى المتقدرات، حيث يتحول إلى مولد الكوبروبورفيرين III، ومن ثم إلى البروتوبورفيرين III. ويتألف هذا التحول من عدة خطوات. ويقوم الإنزيم المتقدري، أكسيداز مولد الكوبروبورفيرين بتحفيز نزع كربوكسيل وأكسدة سلسلتين جانبيتين من حمض البروبيونيك لتشكيل مولد البروتوبورفيرين. ويكون هذا الإنزيم قادراً على التأثير فقط في مولد الكوبروبورفيرين من النمط III، ويمكن لهذا أن يفسر سبب عدم وجود البروتوبورفيرينات من النمط I في الطبيعة بشكل عام. وتحفز أكسدة مولد البروتوبورفيرين إلى بروتوبورفيرين بإنزيم متقدري آخر هو أكسيداز مولد البروتوبورفيرين. ويتطلب تحويل مولد الكوبروبورفيرين إلى بروتوبورفيرين، في كبد الثدييات وجود الأكسجين الجزيئي.

يتضمن تشكيل الهيم انجبال الحديد بالبروتوبورفيرين:

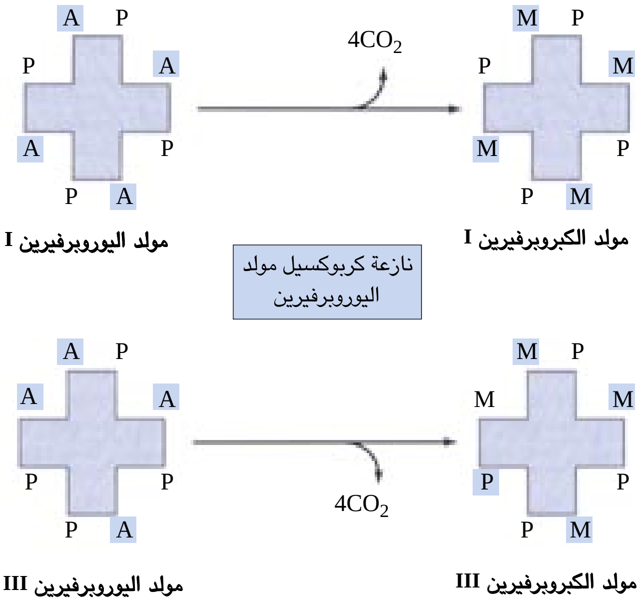
تنطوي الخطوة الأخيرة في تخليق الهيم على انجبال الحديد الحديدي (الحديدوز Ferrous) في البروتوبورفيرين بتفاعل يحفزه سنتاز الهيم أو الفيرويلاتاز (Ferrochelatase)، وهو إنزيم متقدري آخر (الشكل 34-4).

يوجز (الشكل 34-8) خطوات التخليق الحيوي لمشتقات البورفيرين من PBG. ويحدث التخليق الحيوي للهيم في أغلب خلايا الثدييات فيما عدا الكريات الحمراء الناضجة، التي لا تحوي متقدرات. إلا أن 85٪ تقريباً من تخليق الهيم يجري في

الخلايا الطليعة الحمرائية في نخاع العظام، ومعظم المتبقي في الخلايا الكبدية. تكون مولدات البورفيرين المناقشة أعلاه عديمة اللون، وتحوي 6 ذرات هيدروجين إضافية بالمقارنة مع البورفيرينات الملونة المقابلة لها. وتعد هذه البورفيرينات المرجعة (مولدات البورفيرين) وليس البورفيرينات المقابلة، هي المتوسطات الفعلية في التخليق الحيوي للبوروتوبورفيرين والهيم.



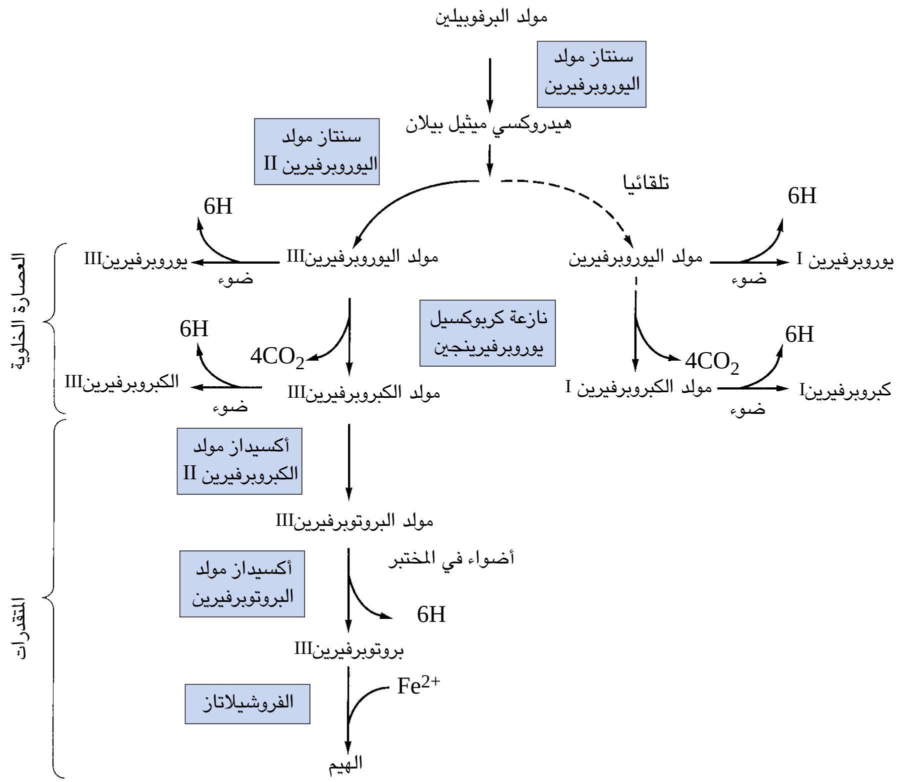
الشكل 34-6 : تحول مولد البرفوبيلين إلى مولدات اليوروبرفيرين. يسمى سنتاز مولد اليوروبرفيرين I أيضاً نازع أمين مولد البرفوبيلين وسنتاز HMB.



الشكل 34-7 : نزع كربوكسيل مولدات اليوروبرفيرين إلى الكبروبرفيرينات في العصارة الخلوية. (A: أسيتيل؛ M: ميثيل؛ P: بروبيونيل).

سنتاز ALA هو الإنزيم المنظم الأساسي في التخليق الحيوي للهيم:

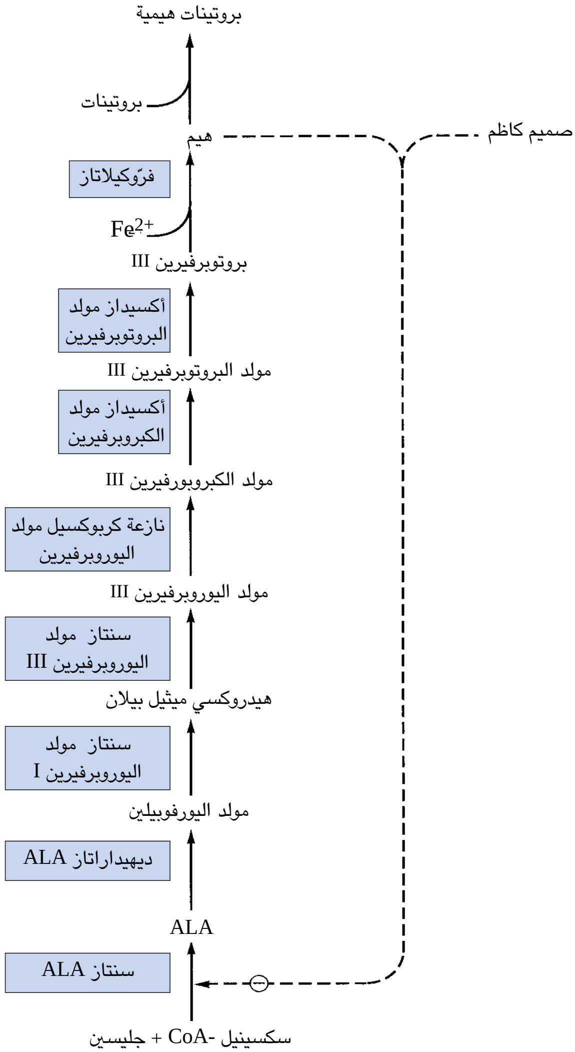
إن التفاعل المحدد للمعدل في سبيل تخليق الهيم هو ذلك الذي يحفزه سنتاز ALA (الشكل 34-5)، وهو إنزيم منظم. ويبدو أن الهيم بتأثيره على الأغلب من خلال جزيء الصميم الكاظم (Aporepressor) يعمل كمنظم سلبي لتخليق سنتاز ALA. ويوضح (الشكل 34-9)، آلية الكظم وإزالة الكظم هذه. ومن المحتمل أن يوجد أيضاً تثبيط واضح بالتلقيم الراجع عند هذه الخطوة، لكن يبدو أن التأثير المنظم الرئيسي للهيم هو الذي يزداد فيه معدل تخليق سنتاز ALA بشكل كبير في غياب الهيم ويتناقص بوجوده. ويكون معدل تقلب سنتاز ALA سريعاً في الحالة السوية (العمر النصفي هو ساعة تقريباً) في كبد الثدييات، وهي سمة مشتركة لإنزيم ما يحفز تفاعلاً ما محدداً للمعدل.



الشكل 8-34 : خطوات التخليق الحيوي لمشتقات البورفيرين من مولد البرفوبيلين.

يمكن للعديد من الأدوية (انظر الفصل 61)، عندما تعطى للإنسان أن تؤدي لزيادة ملحوظة في سنتاز ALA الكبدي. ويستقلب أغلب هذه الأدوية بجملة في الكبد تستعمل بروتيناً هيمياً نوعياً هو السيتوكروم P450. ففي أثناء أيضها، يزداد بشكل كبير استعمال الهيم من قبل السيتوكروم P450، وهذا بدوره ينقص تركيز الهيم داخل الخلية. ويؤثر هذا الحدث الأخير في إزالة الكظم عن سنتاز ALA مع

ازدياد موافق في معدل تخليق الهيم لتلبية احتياجات الخلايا. هناك عدة عوامل تؤثر في إزالة الكظم عن سنتاز ALA المتواسط بالدواء في الكبد. فبشكل خاص، يمكن لإعطاء الجلوكوز أن يمنع ذلك كذلك الأمر بإعطاء الهيماتين (شكل مؤكسد للهيم). وسنناقش بمزيد من التفصيل أهمية بعض هذه الآليات التنظيمية عند التعرض لحالات البورفيرية.

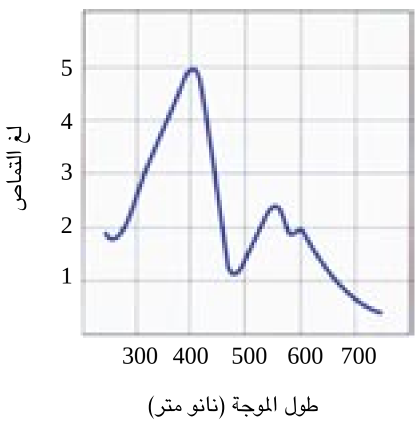


الشكل 34-9 : المتوسطات والإنزيمات في تخليق الهيم وتنظيمه. أرقام الإنزيمات هي تلك المنوه عنها في الجدول 34-1. تتوضع الإنزيمات 1 و 6 و 7 و 8 في المتقدرات، أما الأخرى ففي العصارة الخلوية. تسبب الطفرات في الإنزيمات 2-8 البرفيريات، مع أنه تم تسجيل بضع حالات فقط ناجمة عن عوز الإنزيم 2. يجري تنظيم تخليق الهيم عند سنتاز ALA بآلية الكظم وإزالة الكظم المتواسطة بالهيم وصميمه الكاظم الافتراضي. تشير الخطوط المنقطة إلى التنظيم السالب (−) بوساطة الكظم.

البورفيرينات ملونة ومتألقة:

إن مولدات البورفيرين المتعددة عديمة اللون، في حين تكون مختلف البورفيرينات ملونة جميعها. وعند دراسة البورفيرينات أو مشتقاتها، يكون طيف الامتصاص المميز الذي يبديه كل منها، في كل من المنطقتين المرئية وفوق البنفسجية من الطيف، ذا قيمة كبيرة. ومن الأمثلة على ذلك، منحنى امتصاص محلول البورفيرين في حمض كلور الماء 5 ٪ (الشكل 34-10). ويلاحظ بخاصة شريط الامتصاص الحاد قرب 400 نانومتر. وهذه سمة مميزة لحلقة البورفين وهي تميز كافة البورفيرينات بغض النظر عن السلاسل الجانبية الموجودة. وأطلق على هذا الشريط بعد اكتشافه شريط سوريت (Soret band).

عند تسليط الضوء فوق البنفسجي على البورفيرينات المنحلة في أحماض معدنية قوية أو في مذيبات عضوية، فإنها تصدر تألقاً أحمر قوياً. ويكون هذا التألق مميزاً جداً، بحيث أنه غالباً ما يستخدم لكشف الكميات الصغيرة من البورفيرينات الحرة. وتكون الروابط المضاعفة التي تربط حلقات البيرول في البورفيرينات هي المسؤولة عن الامتصاص والتألق المميزين لهذه المركبات، وتغيب هذه الروابط المضاعفة عن مولدات البورفيرين. وهناك تطبيق مهم للخصائص الضوئية الديناميكية للبورفيرينات هو إمكانية استخدامها في معالجة بعض أنماط السرطان، ويدعى هذا الإجراء المعالجة الضوئية للسرطان. (Cancer phototherapy) حيث غالباً ما تقبط الأورام بورفيرينات أكثر مما تفعل الأنسجة السوية. وبذلك، تعطى البورفيرينات الدموية أو المركبات الأخرى ذات الصلة إلى المصاب بالورم الملائم لها ثم يعرض الورم لليزر الأرجون، الذي يستثير البورفيرينات، منتجاً بذلك تأثيرات سامة للخلايا.



الشكل 34-10 : طيف امتصاص البورفيرين الدموي (هيما توبرفيرين) (محلول 0.01٪ في 5٪ HCl).

يستخدم قياس الضوء الطيفي لاختبار البورفيرينات وطلائعها:

تحظى الكوبروبورفيرينات واليوروبورفيرينات بأهمية سريرية لأنها تفرغ بكميات زائدة في حالات البورفيرية. ويمكن فصل هذه المركبات، عند وجودها في البول أو البراز، عن بعضها بعضاً بالاستخلاص بمزائج من المذيبات المناسبة. ثم يمكن بعد ذلك تعيين هويتها وتحديد كميتها باستخدام طرائق قياس الضوء الطيفي.

ويمكن أيضاً قياس ALA و PBG في البول باختبارات قياس اللون المناسبة.

البورفيريات هي اضطرابات وراثية في أيض الهيم:

البورفيريات هي مجموعة من الاضطرابات الناجمة عن شذوذات في سبيل التخليق الحيوي للهيم، ويمكن أن تكون وراثية أو مكتسبة. وهي ليست منتشرة، لكن من المهم أخذها في الحسبان في بعض الظروف (كما في التشخيص التفريقي لكل من الألم البطني والموجودات العصبية النفسية المتنوعة)، وبخلاف ذلك فإن المرضى سيتعرضون لمعالجات غير مناسبة. وقد خمن أن الملك جورج III كان مصاباً بالبورفيرية المتنوعة الملونة، التي قد تكون مسؤولة عن ملازمته الفراش بشكل متكرر في قلعة ويندسور، ومن المحتمل أيضاً مسئوليتها عن بعض آرائه بالنسبة للمستعمرات الأمريكية. كما أن الحساسية الضوئية (التي تدفع إلى القيام بالنشاطات ليلاً) والتشوه الشديد، اللذين يبديهما بعض ضحايا البورفيرية مكونة الحمر الولادية قد قادا إلى اقتراح بأنه قد يكون عند هؤلاء الأفراد أنماط بدئية من المستذئبات (Werewolves).

تشكل الكيمياء الحيوية الأساس لكشف أسباب البورفيريات وتشخيصها ومعالجتها:

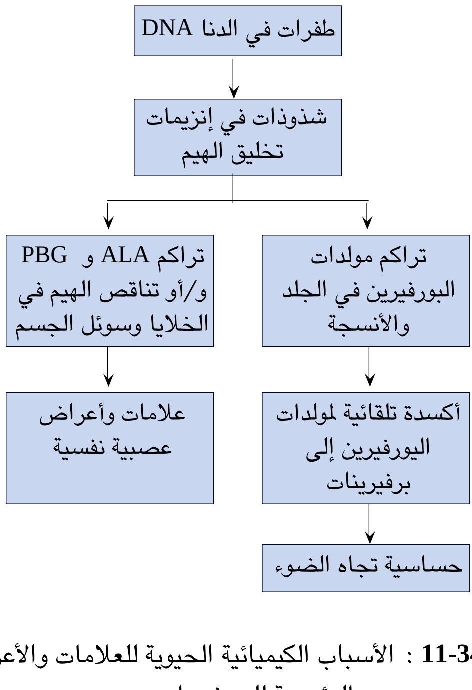
لقد وصفت ستة أنماط رئيسة من البورفيرية، ناجمة عن كظم في فعاليات الإنزيمات من 3 إلى 8 المبينة في الشكل 34-9 (انظر الجدول 34-1 أيضاً). لذلك فإن مقايسة فعالية واحد أو أكثر من هذه الإنزيمات باستخدام المصدر المناسب

(كالكريات الحمراء) مهم في وضع التشخيص الدقيق في الحالات المشتبه بأنها بورفيرية. فالأفراد الذين لديهم فعالية الإنزيم 1 (سنتاز ALA) منخفضة لا يصابون بالبورفيرية (انظر الجدول 34-2). أما الأفراد بفعاليات منخفضة من الإنزيم 2 (ديهدراتاز ALA) فقد أشارت التقارير بأنهم مصابون، لكن هذه الحالات نادرة للغاية.

إن البورفيريات الموصوفة هي عموماً حالات موروثة على كروموسوم جسدي سائد، فيما عدا بورفيرية تكون الحمر الولادية (Congenital Erythropoietic Porphyria)، التي تورث بشكل متنح. ولقد تم في بعض الحالات تحديد الشذوذات الدقيقة في الجينات الموجهة لتخليق الإنزيمات المساهمة في التخليق الحيوي للهيم. وهذا جعل من التشخيص قبل الولادة لبعض البورفيريات أمراً ممكناً. وكما هو الحال فعلاً بالنسبة لأغلب الأخطاء الخلقية، تنجم العلامات والأعراض السريرية للبورفيرية إما عن عوز بالنواتج الأيضية بعد الإحصار الإنزيمي، أو عن تراكم نواتج الأيض خلف هذا الإحصار. وحينما تحدث الآفة في الإنزيم بشكل مبكر في السبيل قبل أن تتشكل مولدات البورفيرين (كالإنزيم 3 بالشكل 34-9، في البورفيرية الحادة المتقطعة)، يتراكم كل من ALA و PBG في أنسجة الجسم وسوائله (الشكل 34-11). ويمكن أن يؤدي أحد هذين المركبين أو كلاهما إلى تأثيرات سامة في الأعصاب البطنية والجهاز العصبي المركزي، مما يؤدي إلى الألم البطني وأعراض عصبية نفسية تشاهد في هذا النمط من البورفيرية. أما الأسس الكيميائية الحيوية المحتملة لهذه الأعراض فهي أن ALA قد يثبِّط ATP آز في النسيج العصبي، أو أن ALA قد يقْبط من الدماغ ويسبب بطريقة ما شلل التوصيل.

من جانب آخر، تؤدي الإحصارات الإنزيمية في أواخر السبيل إلى تراكم مولدات البورفيرين المشار إليها في (الشكلين 34-9 و 34-11). وتسبب نواتج أكسدتها، أي مشتقات البورفيرينات الموافقة، الحساسية الضوئية، وهي تفاعل تجاه الضوء المرئي بطول 400 نانومتر تقريباً. ويعتقد أنه عندما تتعرض البورفيرينات لضوء له طول هذه الموجة، فإنها تصبح «مستثارة»، ثم تتفاعل مع الأكسجين الجزيئي لتشكيل الجذور الأكسجينية. وتقوم أنماط هذه الأخيرة بأذية الجسيمات الحالة والعضيات الأخرى، فتحرر الجسيمات الحالة المتضررة ما تحويه من إنزيمات التدرك، مسببة درجات متفاوتة من الأذية الجلدية، بما في ذلك الندوب.

يمكن تصنيف البورفيريات على أساس الأعضاء أو الخلايا الأكثر تأثراً. وهي، بشكل عام، الأعضاء أو الخلايا التي يكون فيها تخليق الهيم نشيطاً على نحو خاص. ويقوم نخاع العظام بتخليق كميات معتبرة من الهيموجلوبين ويكون الكبد نشيطاً في تخليق بروتين هيمي آخر هو السيتوكروم P450. لذلك فإن أحد تصنيفات البورفيريات هو الذي يشير إلى أنها إما أن تكون مكوُّنة للحمر أو كبدية بشكل رئيسي، وتدخل أنماط البورفيرية ضمن هذين الصفين، كما هو موضح في الجدول 34-2. والسؤال المطروح الآن هو: لماذا تؤثر أنماط نوعية من البورفيرية في أعضاء معينة أكثر من تأثيرها في أعضاء أخرى؟ والإجابة الجزئية عن ذلك هي أن مستويات نواتج الأيض التي تسبب الأذية (مثل ALA أو PBG أو البورفيرينات النوعية) يمكن أن تتباين بشكل واضح في مختلف الأعضاء والخلايا، بحسب الفعاليات المختلفة لإنزيماتها المشكلة للهيم.



الشكل 34-11 : الأسباب الكيميائية الحيوية للعلامات والأعراض الرئيسية للبورفيريات.

كما سبق وذكرنا، إن سنتاز ALA هو الإنزيم المنظم الأساسي في سبيل التخليق الحيوي للهيم. لذلك فهو مهم لفهم آلية تنظيمه، لكي ندرك بعض خصائص هذه الأمراض. فسنتاز ALA يكون معرضاً لكل من التحريض والكظم، ويمكن أن تزداد فعاليته بوضوح (حتى 50 ضعفاً) في بعض الحالات. ويحرض عدد كبير من الأدوية هذا الإنزيم (مثل الباربيتورات والجريزيوفولڤين Griseofulvin) حيث تفعل أغلب الأدوية ذلك بتحريض السيتوكروم P450 (انظر الفصل 61)، الذي يستخدم الهيم، فهو بذلك يزيل كظم (يحرض) سنتاز ALA. وعند المرضى بالبورفيرية، يؤدي ازدياد فعالية سنتاز ALA إلى ارتفاع مستويات طلائع الهيم المؤذية بشكل كامن قبل الإحصار الأيضي.

لذلك فإن أخذ الأدوية التي تسبب تحريض السيتوكروم P450 (المعروفة بمحرضات الجسيمات الصغرية) يمكن أن يحرض هجمات البورفيرية.

يمكن، عموماً، إثبات تشخيص نمط نوعي من البورفيرية بأخذ القصة السريرية والعائلية في الحسبان، وكذلك الفحص السريري والفحوص المخبرية المناسبة. ويدرج (الجدول 34-2) الموجودات الرئيسية في الأنماط الأساسية الست للبورفيرية.

يمكن للمستويات العالية من الرصاص أن تؤثر في أيض الهيم عن طريق الارتباط مع زمر السلفهيدريل SH في الإنزيمات، مثل الفروكيلاتاز (Ferrochelatase) وديهيدراتاز ALA. وهذا يؤثر في أيض البورفيرين. وتوجد مستويات مرتفعة من البروتوبورفيرين في كريات الدم الحمراء، ومستويات مرتفعة من ALA والكوبروبورفيرين في البول.

يؤمل في أن تصبح معالجة البورفيريات ممكنة على المستوى الجيني. أما في الوقت الحاضر، فالمعالجة عرضية بشكل أساسي. ومن المهم أن يتجنب المرضى أية أدوية ومخدرات، بما في ذلك الكحول، التي يمكن أن تسبب تحريض السيتوكروم P450. كما أن تناول كمية كبيرة من الطعام الغني بالسكريات (كمية كبيرة من الجلوكوز) أو إعطاء الهيماتين (هيدروكسيد الهيم) قد يكظم سنتاز ALA، مما يؤدي إلى تناقص بإنتاج طلائع الهيم المؤذية.

وقد يستفيد المرضى الذين يظهرون حساسية للضوء من إعطاء β– كاروتين؛ ويبدو أن هذا المركب يخفض إنتاج الجذور الحرة، وبذلك تتناقص الحساسية الضوئية. كما أن الواقيات الشمسية التي ترشح الضوء المرئي يمكن أن تكون مفيدة لمثل هؤلاء المرضى.

ينتج البيليروبين عن تقويض الهيم:

يتخرب في الشروط الفيزيولوجية عند الإنسان البالغ نحو 1-2 × 10^8 من الكريات الحمراء في الساعة الواحدة. وبذلك فإن نحو 6 جم تقريباً من الهيموجلوبين يتقلب في اليوم عند إنسان وزنه 70 كجم. وعندما يتخرب الهيموجلوبين في الجسم، يتدرك الجلوبين إلى مقوماته من الأحماض الأمينية، التي يعاد استخدامها، ويدخل حديد الهيم إلى جميعة الحديد لإعادة الاستخدام أيضاً. كما يتدرك جزء البورفيرين الهيمي الخالي من الحديد، بشكل رئيسي في الخلايا الشبكية البطانية في الكبد والطحال ونخاع العظام.

يبدو أن تقويض الهيم الآتي من جميع البروتينات الهيمية ينجز في الأجزاء الصغروية (الجسيمات الصغرية) من الخلايا بوساطة جملة إنزيمية معقدة تسمى أكسيجيناز الهيم. وفي الوقت الذي يصل فيه هيم البروتينات الهيمية إلى جملة أكسجيناز الهيم، يكون الحديد قد تأكسد عادة إلى شكل الفريك (حديديك)، مشكلاً الهيمين (Hemin). وتكون جملة أكسجيناز الهيم قابلة للتحريض بالركيزة، وهي تتوضع قريباً جداً من جملة النقل الالكتروني في الجسيمات الصغرية. وكما هو موضح في (الشكل 34-12)، يرجع الهيمين إلى هيم بالـNADPH وبمساعدة المزيد من NADPH، تتم إضافة الأكسجين إلى الجسر الميثينيلي– α بين البيرونات I و II في البورفيرين. ويتأكسد الحديدوز (Ferrous iron) مرة أخرى إلى شكل الحديديك (Ferric). وبإضافة المزيد من الأكسجين، يتحرر أيون الحديديك وينتج أحادي أكسيد الكربون، وتنشأ كمية مولية متساوية من البيليڤردين (Biliverdin IX-α) عن انشطار الحلقة رباعية البيرول.

الإنزيم المساهم(2)	النمط والصف وعدد MIM	العلامات والأعراض الرئيسية	نتائج الفحوص المخبرية
1 – سنتاز ALA (الشكل الحمرائي)	فقر دم الأرومات الحديدية المرتبط بالكروموسوم(3) X(تكون الحمر) (MIM 301300)	فقر الدم	تناقص الهيموجلوبين وتعداد الكريات الحمراء
2 – ديهيدراتاز ALA	عوز ديهيدراتاز ALA (كبدية)	ألم بطني، أعراض عصبية نفسية	وجود حمض δ–أمينوليفولينيك في البول
3 – سنتاز مولد اليوروبورفيرين I	البورفيرية الحادة المتقطعة (كبدية) (MIM 176000)	ألم بطني، أعراض عصبية نفسية	مولد البورفوبيلينوجين إيجابي في البول، وكذلك اليوروبورفيرين
4 – سنتاز مولد اليوروبورفيرين III	مكونة الحمر الولادية (تكون الحمر) (MIM263700)	لا توجد حساسية ضوئية	اليوروبورفيرين إيجابي والبرفوبيلينوجين سلبي
5 – نازعة كربوكسيل مولد اليوروبورفيرين	البورفيرية الجلدية الآجلة (كبدية) (176100)	حساسية ضوئية	اليوروبورفيرين إيجابي البرفوبيلينوجين سلبي
6 – أكسيداز مولد الكبروبورفيرين	الكبروبورفيرية الوراثية (كبدية) (MIM 121300)	حساسية ضوئية، ألم بطني، أعراض عصبية نفسية	مولد البرفوبيلينوجين إيجابي في البول، واليوروبورفيرين إيجابي في البول، البروتوبورفيرين إيجابي في البراز
7 – أكسيداز مولد البروتوبورفيرين	البورفيرية الملونة (المتنوعة) (كبدية) (MIM176200)	حساسية ضوئية، ألم بطني، أعراض عصبية نفسية	مولد البورفوبيلين واليوروبورفيرين إيجابيان في البول، والبروتوبورفيرين إيجابي في البراز
8 – الفروكيلاتاز	البروتوبورفيرية (تكون الحمر) (MIM177000)	حساسية ضوئية	البروتوبورفيرين إيجابي في البراز والبروتوبورفيرين إيجابي في الكريات الحمراء

الجدول 34-2 *: ملخص الموجودات الرئيسية في البورفيريات* [1].

(1) أدرجت فقط الموجودات الكيميائية الحيوية في المراحل النشيطة من هذه الأمراض. وتكون بعض الشذوذات الكيميائية الحيوية قابلة للكشف في المراحل المتأخرة من بعض الحالات السابقة. وتعد الحالات 3 و5 و 8 أكثر البورفيريات انتشاراً عموماً.

(2) يتوافق ترقيم الإنزيمات في هذا الجدول مع ذلك المستخدم في الشكل 34-9.

(3) إن فقر دم الأرومات الحديدية المرتبطة بالكروموسوم X ليس بورفيرية، لكن تم إدراجه هنا لأن سنتاز حمض δ–أمينوليڤولينيك متورط في هذه الحالة.

يفرغ البيليڤردين الأخضر IX-α عند الطيور والبرمائيات، أما عند الثدييات، فهناك إنزيم ذواب يدعى ردكتاز البيليڤردين يقوم بإرجاع الجسر الميثينيلي بين البيرول III والبيرول IV إلى زمرة ميثيلين لإنتاج البيليروبين IX-a وهو صباغ أصفر (الشكل 34-12).

يقدر أن 1 جم من الهيموجلوبين يعطي 35 مجم من البيليروبين. ويتشكل 250-350 مجم تقريباً من البيليروبين يومياً لدى البالغين، مشتقة بشكل رئيسي من الهيموجلوبين وأيضاً من تكون الحمر اللافعال، ومن بروتينات هيمية أخرى متنوعة كالسيتوكروم P450. يمكن متابعة التحول الكيميائي للهيم إلى بيليروبين في الخلايا الشبكية البطانية في داخل الجسم (in vivo) كلون أرجواني للهيم في ورم دموي ويتحول ببطء إلى صباغ أصفر هو البيليروبين (Bilirubin).

ينقل البيليروبين المتشكل بالأنسجة المحيطية إلى الكبد عن طريق ألبومين البلازما. ويجري المزيد من أيض البيليروبين في الكبد بشكل رئيسي. ويمكن تقسيم ذلك إلى ثلاث عمليات: (1) قبط البيليروبين من قبل الخلايا الكبدية المتنية، و (2) اقتران البيليروبين في الشبكة الهيولية الباطنية الملساء، و (3) إفراز البيليروبين المقترن في الصفراء. وسنناقش كلاً من هذه العمليات بشكل منفصل.

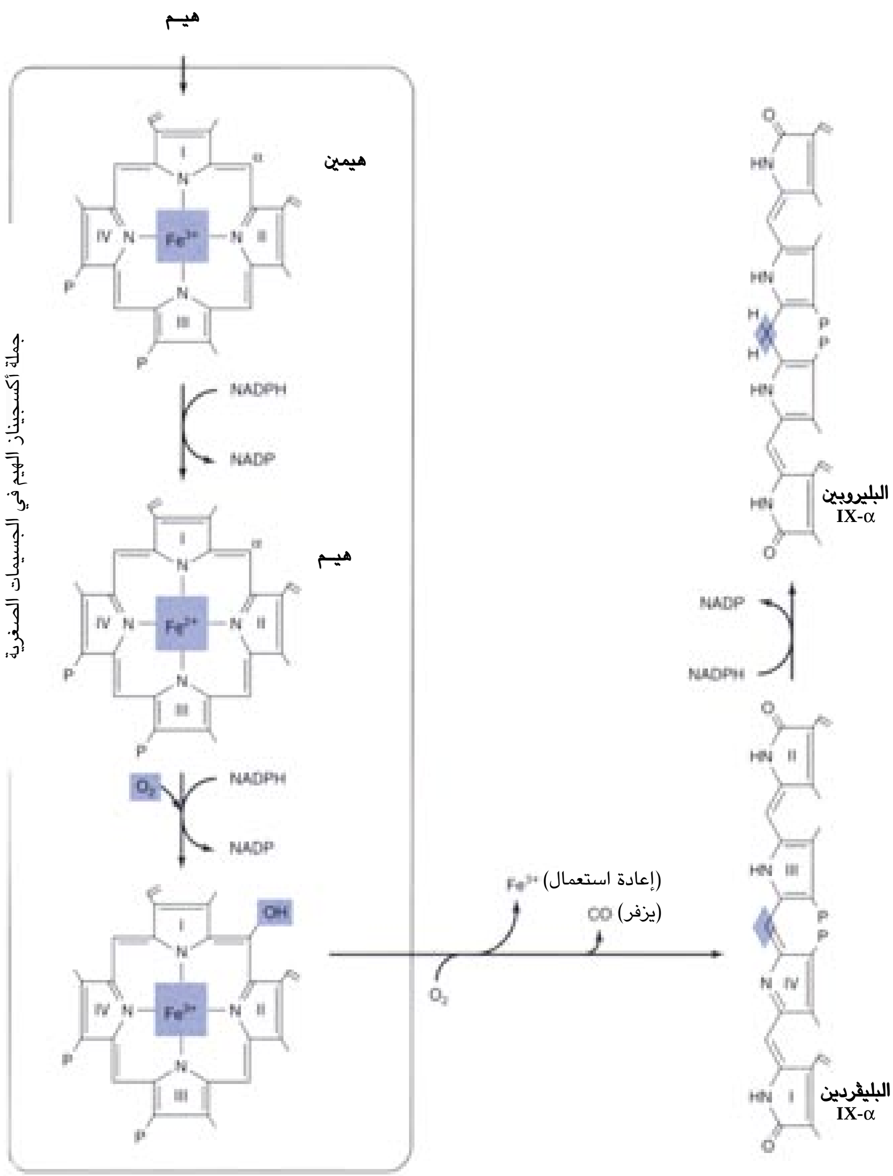
الكبد يقبط البيليروبين:

البيليروبين هو المركب الوحيد الذواب قليلاً في الماء، لكن يزداد ذوبانه في البلازما بارتباطه غير التكافؤي (التساهمي) مع الألبومين. حيث يبدو أن بكل جزيء من الألبومين مقر واحد عالي الألفة وآخر منخفض الألفة تجاه البيليروبين. ففي 100 مل من البلازما، يمكن لـ 25 مجم من البيليروبين تقريباً أن يرتبط بقوة بالألبومين عند مقره عالي الألفة. أما البيليروبين الزائد عن هذه الكمية فيكون ارتباطه ضعيفاً، وبذلك ينفصل بسهولة وينتشر إلى الأنسجة. وهناك عدد من المركبات، كالمضادات الحيوية وأدوية أخرى، تنافس البيليروبين على مقر الارتباط عالي الألفة في الألبومين، لذلك يمكن لهذه المركبات أن تحل مكان البيليروبين في الألبومين؛ ولهذا الأمر آثار سريرية مهمة.

ينزع البيليروبين في الكبد عن الألبومين ويقبط عند السطح الجيباني في الخلايا الكبدية بوساطة جملة قابلة للإشباع يتواسطها الحامل. لهذه الجملة الميسرة للنقل سعة كبيرة جداً، بحيث يبدو أن هذه الجملة غير محدودة المعدل في أيض البيليروبين حتى في الحالات المرضية. ونظراً لأن الجملة الميسرة للنقل هذه تسمح بحدوث توازن للبيليروبين عبر الغشاء الجيباني في الخلايا الكبدية، فإن المحصلة الصافية لقبط البيليروبين تعتمد على نزع البيليروبين بسبل أيضية تالية.

يجري اقتران البيليروبين مع حمض الجلوكورونيك في الكبد:

إن البيليروبين مركب غير قطبي، وقد يستمر بقاؤه في الخلايا (مرتبطاً بالشحميات مثلاً) إن لم يصبح ذواباً في الماء. وتقوم الخلايا الكبدية بتحويل البيليروبين إلى شكل قطبي يفرغ بسهولة في الصفراء، وذلك بإضافة جزيئات من حمض الجلوكورونيك إليه. وتدعى هذه العملية بالاقتران (Conjugation) (أو التقارن)، يمكن لها أن تستخدم جزيئات قطبية بدلاً من حمض الجلوكورونيك (كالسلفات). الجدير ذكره هنا أن العديد من الهرمونات الستيرويدية والأدوية تتحول أيضاً إلى مشتقات ذوابة في الماء بالاقتران تحضيراً لإفراغها (انظر الفصل 61). يحوي الكبد شكلين متماثلين، على الأقل، من الجلوكورونوزيل ترانسفيراز يعمل كلاهما على البيليروبين. وتتوضع هذه الإنزيمات بشكل رئيس في الشبكة الهيولية الباطنية الملساء، تستخدم حمض UDP– جلوكورونيك كمانح للجلوكورونوزيل. ويكون أحادي جلوكورونيد البيليروبين مركباً متوسطاً يتحول لاحقاً إلى ثنائي الجلوكورونيد (الشكلان 34-13 و 34-14). حيث أن معظم البيليروبين المفرغ في الصفراء عند الثدييات يكون بشكل بيليروبين ثنائي الجلوكورونيد، إلا أنه عندما توجد مقترنات البيليروبين بشكل شاذ في بلازما الإنسان (كما في اليرقان الانسدادي)، فهي تكون بشكل جلوكورونيدات أحادية بشكل سائد. ويمكن تحريض فعالية UDP ـ جلوكورونوزيل ترانسفيراز بعدد من الأدوية المفيدة سريرياً، منها الفينوباربيتال. وسنتعرض لاحقاً لمزيد من المعلومات حول ضم الجلوكورونوزيل عند مناقشة الاضطرابات الوراثية في اقتران البيليروبين.



الشكل 34-12 : مخطط يوضح جملة أكسجيناز الهيم في الجسيمات الصغرية.

يفرز البيليروبين في الصفراء:

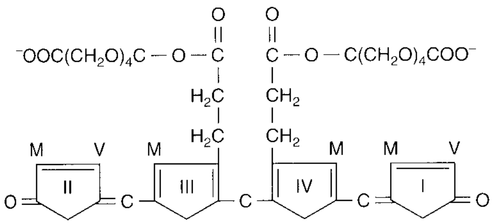
يجري إفراز البيليروبين المقترن في الصفراء بآلية نقل فعالة، والتي تكون على الأرجح محددة لمعدل العملية الكاملة لأيض البيليروبين الكبدي. ويكون النقل الكبدي للبيليروبين المقترن إلى الصفراء قابلاً للتحريض بتلك الأدوية نفسها القادرة على تحريض اقتران البيليروبين. وبذلك، فإن جمل الاقتران والإفراغ الخاصة بالبيليروبين تسلك سلوك وحدة وظيفية متناسقة. في الشروط الفيزيولوجية يكون كل البيليروبين المفرز في الصفراء مقترناً بشكل أساسي. ويمكن أن توجد كميات معتبرة من البيليروبين غير المقترن في الصفراء فقط بعد المعالجة الضوئية.

توجد في الكبد جمل متعددة لإفراز مركبات توجد في الحالة السوية وأخرى دوائية في الصفراء بعد أيضها. وتتشارك بعض هذه الجمل الإفرازية بالبيليروبين ثنائي الجلوكورونيد، أما بعضها الآخر فيعمل بشكل مستقل. ويوجز (الشكل 34-15) العمليات الثلاثة الرئيسية المساهمة في نقل البيليروبين من الدم إلى الصفراء. وتم أيضاً الإشارة إلى المواقع التي تتأثر في عدد من الحالات المسببة للبرقان (انظر فيما بعد).

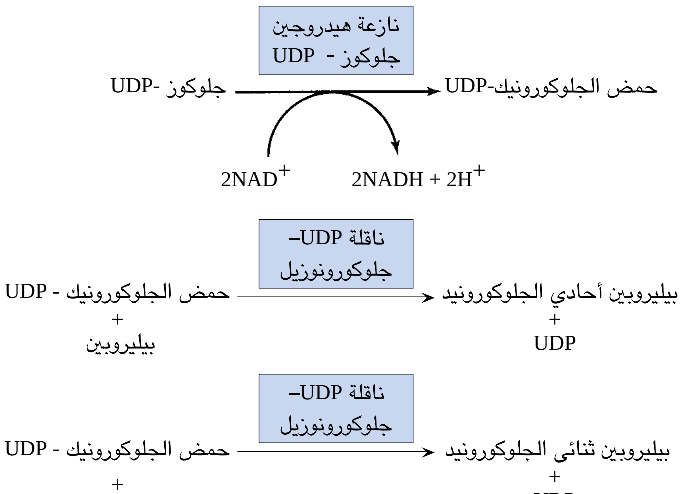
يرجع البيليروبين المقترن إلى مولد اليوروبيلين بفعل الجراثيم المعوية:

حالما يصل البيليروبين المقترن إلى اللفائفي النهائي والأمعاء الغليظة، يتم نزع الجلوكورونيدات بوساطة إنزيمات جرثومية نوعية (β-جلوكورونيداز)، وبعد ذلك يرجع الصباغ بوساطة النبيت (Flora) البرازي إلى مجموعة من المركبات رباعية البيرول غير ملونة تدعى اليوروبيلينوجينات (Urobilinogens) (الشكل 34-16). ويعاد في اللفائفي النهائي والأمعاء الغليظة امتصاص جزء صغير من اليوروبيلينوجينات، ويعاد إفراغها خلال الكبد لتشكل دورة اليوروبيلينوجين المعوية الكبدية. وفي الحالات غير السوية، بخاصة عندما تتشكل كميات مفرطة من الصباغ الصفراوي أو داء كبدي يتداخل مع هذه الدورة داخل الكبدية، فإن اليوروبيلينوجين قد يفرغ أيضاً في البول.

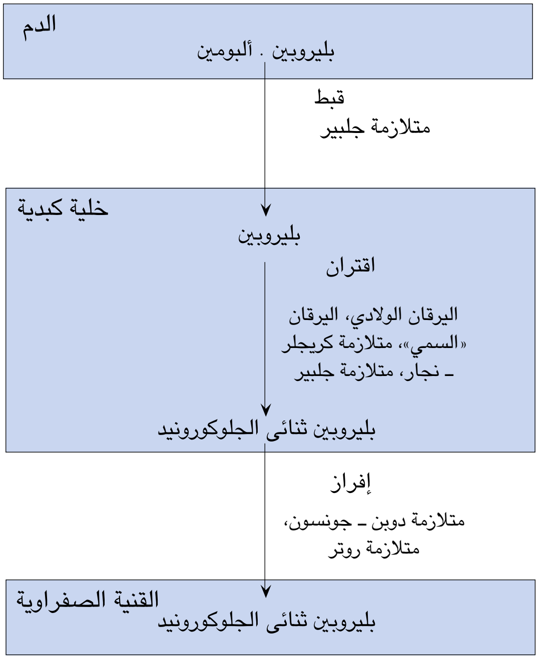
تؤكسد، في الحالة السوية، معظم اليوروبيلينوجينات عديمة اللون المتشكلة في القولون بفعل النبيت البرازي إلى يوروبيلينات هناك (مركبات ملونة)، وتفرغ في البراز (الشكل 34-16). وينجم انغماق لون البراز عند تركه معرضاً للهواء عن أكسدة اليوروبيلينوجينات المتبقية إلى يوروبيلينات.



الشكل 34-13 : «يتفاعل مباشرة». يرتبط حمض الجلوكورونيك عن طريق رابطة أستيرية بزمرتين من حمض البروبيونيك في البيليروبين ليتشكل أسيل الجلوكورونيد.



الشكل 34-14 : اقتران البيليروبين مع حمض الجلوكورونيك. تتشكل الجلوكورونات المانحة، أي حمض UDP–جلوكورونيك، من UDP–جلوكوز كما هو مبين. يوجد في كبد الإنسان شكلان أسويان على الأقل من ناقلة الجلوكورونوزيل التي تستخدم البيليروبين كركيزة.



الشكل 34-15 : مخطط يوضح العمليات الثلاث الرئيسية (قبط واقتران وإفراز) المساهمة في نقل البليروبين من الدم إلى الصفراء. وهناك بعض البروتينات داخل الخلايا الكبدية، مثل الليجاندين والبروتين Y، تشترك في قبط البليروبين لهذه الخلايا. تتأثر العملية في عدد من الحالات المسببة لليرقان كما هو مبين.

يسبب فرط بيليروبين الدم اليرقان:

عندما يتجاوز البيليروبين في الدم 1مجم/ 100مل (17.1ميكروبول/ل)، يحدث فرط بيليروبين الدم، الذي يمكن أن ينجم عن إنتاج البيليروبين بكمية تفوق ما يمكن للكبد السوي أن يفرغه، أو عن قصور الكبد المتضرر عن إفراغ البيليروبين المنتج بكميات سوية. أما في غياب الأذية الكبدية، فإن انسداد القنوات المفرغة بالكبد ـ بمنع إفراغ البيليروبين ـ يسبب أيضاً فرط بيليروبين الدم. وفي جميع هذه الحالات، يتراكم البيليروبين في الدم، وعندما يصل تركيزاً معيناً (2-2.5 مجم/ 100مل تقريباً)

فهو ينتشر إلى الأنسجة، التي تصبح بعد ذلك صفراء اللون. وتدعى هذه الحالة اليرقان (Icterus , Jaundice).

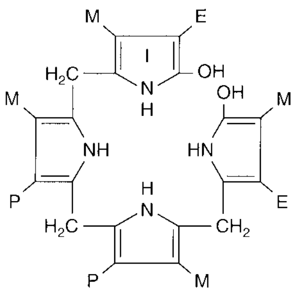
في الدراسات السريرية لليرقان، تعطى أهمية كبيرة لقياس البيليروبين في المصل. وقد كان فان دنبرج (Van den Bergh) أول من ابتكر طريقة للمقايسة الكمية لمحتوى المصل من البيليروبين بتطبيق اختبار إيرليخ على البيليروبين في البول. ويعتمد تفاعل إيرليخ على اقتران حمض السلفانيليك الديازي (كاشف ديازوإيرليخ) والبيليروبين لإنتاج مركب آزو الأحمر ـ الأرجواني. وقد استخدم الميثانول في الطريقة الأصلية مثلما وصفها إيرليخ لتأمين محلول يكون فيه كل من البيليروبين وكاشف الديازو ذوابين.

وقد حذف فان دنبرج بشكل غير متعمد الميثانول بين الفينة والفينة عند محاولة قياس صباغ صفراوي في صفراء الإنسان. وقد أصابته الدهشة بنشوء سوي للون يحدث بشكل مباشر. لذلك فقد أطلق على هذا الشكل من البيليروبين الذي يتفاعل دون إضافة الميثانول اسم «المتفاعل المباشر». وتبين بعد ذلك أن هذا هو التفاعل المباشر نفسه الذي يحدث أيضاً في المصل المأخوذ من حالات اليرقان الناجمة عن الانسداد الصفراوي. إلا أنه كان من الضروري إضافة الميثانول لكشف البيليروبين في المصل السوي أو ذلك الذي كان موجوداً بإفراط في المصل المأخوذ من حالات اليرقان الانحلالي، حيث لم يعثر على دليل على وجود الانسداد. وقد طبق مصطلح «المتفاعل اللامباشر» على ذلك الشكل من البيليروبين الذي يمكن قياسه فقط بعد إضافة الميتانول.

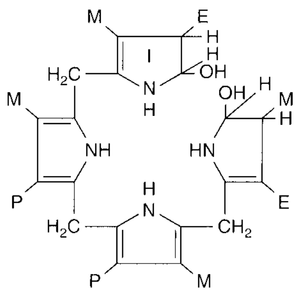
اكتشف بعد ذلك أن البيليروبين اللامباشر هو بيليروبين «حر» (غير مقترن) في طريقه إلى الكبد من الأنسجة الشبكية البطانية، حيث ينتج البيليروبين بشكل أساسي من تحطم بورفيرينات الهيم. ونظراً لأن هذا البيليروبين غير ذواب في الماء، فهو يتطلب الميثانول ليباشر الاقتران مع كاشف الديازو. وفي الكبد، يصبح البيليروبين الحر مقترناً مع حمض الجلوكورونيك، ويمكن بعد ذلك أن يفرغ المقترن، جلوكورونيد البيليروبين في الصفراء. وعلاوة على ذلك، يستطيع البيليروبين المقترن، كونه ذواباً في الماء، أن يتفاعل مباشرة مع كاشف الديازو، بحيث أن البيليروبين

المباشر الذي اصطلحه فان دنبرج هو في الواقع بيليروبين مقترن (جلوكورونيد البيليروبين).

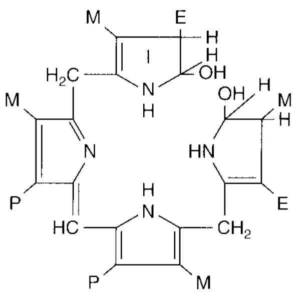
وبالاعتماد على نمط البيليروبين الموجود في البلازما، أي غير مقترن أو مقترن، يمكن تصنيف فرط البيليروبين في الدم إلى فرط البيليروبين الاحتباسي الناجم عن فرط الإنتاج، أو فرط بيليروبين الدم القالس الناجم عن جَزْر (قلس) البيليروبين إلى مجرى الدم بسبب الانسداد الصفراوي.



مولد ميزوبليروبين
$(C_{33}H_{44}O_6N_4)$



مولد ستركوبيلين
(L)- مولد اليوروبيلين



ستركوبيلين
L- مولد يوروبيلين

الشكل 34-16 : بنية بعض الأصبغة الصفراوية

نظراً لأن البيليروبين مركب كاره للماء، فإن البيليروبين غير المقترن هو الوحيد الذي يستطيع عبور الحائل الدموي الدماغي إلى الجهاز العصبي المركزي، وبذلك يمكن أن يحدث اعتلال الدماغ الناجم عن فرط بيليروبين الدم (اليرقان النووي Kernicterus) فقط بالنسبة للبيليروبين غير المقترن، كما هو الحال في فرط بيليروبين الدم الاحتباسي. من جانب آخر، يظهر في البول البيليروبين المقترن فقط لأنه ذواب في الماء. ووفقاً لذلك، لا يحدث اليرقان مع بيلة صفراوية (Choluric Jaundice) (البيلة اليرقانية هي وجود أصباغ صفراء في البول) إلا في فرط بيليروبين الدم القالس، ويحدث اليرقان عديم البيلة الصفراوية (Acholuric Jaundice) بوجود فرط في البيليروبين غير المقترن فقط.

توجد كميات مرتفعة من البيليروبين غير المقترن في الدم في عدد من الحالات:

1 – فاقات الدم الانحلالية: وهي من الأسباب المهمة لفرط البيليروبين غير المقترن في الدم، ومع أن فرط البيليروبين غير المقترن في الدم يكون طفيفاً عادة (أقل من 4 مجم/100 مل، أقل من 68.4 ميكرومول/ل) حتى في حال الانحلال الدموي الواسع، وذلك بسبب قدرة الكبد الكبيرة على معالجة البيليروبين. إلا أنه عندما تختل معاملة البيليروبين بسبب عيب مكتسب أو شذوذ وراثي، فقد يحدث فرط البيليروبين غير المقترن في الدم. والفقرات التالية هي الأسباب الأكثر شيوعاً لهذه الحالة.

2 – «اليرقان الفيزيولوجي» الوليدي: تعد هذه الحالة العابرة السبب الأكثر شيوعاً لفرط البيليروبين غير المقترن في الدم. تنجم عن انحلال دم متسارع وعدم نضج جملة قبط واقتران وإفراز البيليروبين في الكبد. ولا تنخفض فعالية UDP– جلوكورونوزيل ترانسفيراز فحسب، بل على الأغلب ينخفض تخليق ركيزة هذا الإنزيم، وهي حمض UDP– جلوكورونيك. وحيث أن البيليروبين الزائد يكون غير مقترن، لذلك فهو قادر على اختراق الحائل الدموي الدماغي عندما يتجاوز تركيزه في البلازما المقدار الذي يمكن للألبومين أن يربطه بقوة (20-25 مجم/100مل). ويمكن أن يؤدي ذلك إلى اعتلال الدماغ السُمِّي بفرط بيليروبين الدم، أو ما يدعى

باليرقان النووي، الذي يمكن أن يسبب التخلف العقلي. وبسبب تميز قابلية تحريض جملة أيض البيليروبين هذه، يعطى الفينوباربينال للولدان المصابين باليرقان، وهو فعال في هذا الاضطراب. بالإضافة إلى أن التعرض للضوء الأزرق (المعالجة الضوئية) يحرض الإفراغ الكبدي للبيليروبين غير المقترن، بتحويل بعض البيليروبين لمشتقات أخرى مثل قطع الماليميد (Maleimide) ومصاوغات هندسية تفرغ في الصفراء.

3 – متلازمة كريجلر ـ نجّار (Crigler-Najjar) من النمط I اليرقان الولادي غير الانحلالي: اضطراب صبغي جسدي متنح نادر عند الانسان، ينجم عن عيب أيضي أولي في اقتران البيليروبين. ويتصف بيرقان ولادي وخيم ناجم عن الغياب الوراثي لفعالية ناقلة UDP– جلوكورونوزيل ترانسفيراز البيليروبين في الأنسجة الكبدية. ويكون المرض مميتاً عادة خلال أول 15 شهراً من الحياة، لكن أشارت التقارير إلى أن القليل من المراهقين لم يبدوا صعوبات حتى فترة البلوغ. ويعالج هؤلاء الأطفال بالمعالجة الضوئية التي تخفض نوعاً ما مستويات البيليروبين في البلازما؛ أما الفينوباربيتال فليس له تأثير في تشكيل جلوكورونيدات البيليروبين عند المصابين بمتلازمة كريجلر ـ نجار من النمط I. وتتجاوز مستويات البيليروبين في المصل 20 مجم/ 100 مل عادة عندما لا تعالج هذه الحالة.

4 – متلازمة كريجلر ـ نجار من النمط II: يبدو أن هذا الاضطراب الوراثي النادر ينتج عن عيب معتدل في جملة اقتران البيليروبين ويكون ذا سلوك حميد أكثر. ولا تتجاوز تراكيز البيليروبين في المصل عادة 20 مجم/100مل، لكن يكون كل البيليروبين المتراكم هو من النمط غير المقترن. ومن المثير أن الصفراء عند هؤلاء المرضى لا تحوي البيليروبين أحادي الجلوكورونيد. وقد افترض أن العيب الوراثي قد يشمل UDP– جلوكورونوزيل ترانسفيراز الكبدية، التي تضيف زمرة جلوكورونيل أخرى إلى البيليروبين أحادي الجلوكورونيد. يمكن أن يستجيب المصابون بهذه المتلازمة للمعالجة بجرعات كبيرة من الفينوباربيتال.

5– متلازمة جلبير (Gilbert): هي مجموعة متغايرة من الاضطرابات، وعرف الآن أن العديد منها ناجم عن انحلال دموي معاوض مترافق مع فرط البيليروبين غير

المقتـرن في الدم. إلا أنه وجـدت عند عـدد من الأفـراد قطع نيـوكليـوتيـدية مـتكررة موسـعة وذلك في منطقة تحريض الجين المرمز لـ UDP– جلوكورنوزيل ترانسـفيراز Iمما يؤدي إلى تناقص مستوى الإنزيم، وهذه الحالة غير مؤذية إطلاقاً.

6– فرط بيليروبين الدم السمي: يمكن أن ينجم فرط البيليروبين غير المقترن بالدم عن خلل وظيـفـة الكبـد مـحـرَّض سـمـيـاً، كـمـا يحـدث عند التـسـمم بالكلوروفـورم والأرسـفينامينات ورابع كلورور الكربون والأسيتامينوفين وڤيروسـات التـهاب الكبد والتلي والتـسـمم بفطر الأمـانيت (Amanita). ومع أن مـعظم هذه الاضطرابات المكتسبة ناجمة عن أذية بالخلايا الكبدية المتنية، التي تسبب خللاً بالاقتران، إلا أنه كثير ما يكون هناك درجة من الانسداد في الشجرة الصفراوية ضمن الكبد مما يؤدي إلى وجود بعض من فرط في البيليروبين المقترن في الدم.

انسداد الشجرة الصفراوية هو السبب الأكثر شيوعاً لفرط البيليروبين المقترن في الدم:

1– انسداد الشجـرة الصفراوية: ينجم فرط البيليروبين المقترن في الدم عادة عن انسداد في القنوات الصفراوية العامة أو الكبدية وبسبب هذا الانسداد لا يمكن إفراغ البيليروبين ثنائي الجلوكورونيد، لذلك فهو يُقْلس إلى الأوردة الكبدية والأوعية اللمفية، ويظهر البيليروبين المقترن في الدم والبول (اليرقان مع بيلة صفراوية).

يستخدم مصطلح يرقان الركود الصفراوي (Cholestatic Jaundice) ليشمل جميع حالات اليرقان الانسدادي خارج الكبد. وهو يغطي أيضاً تلك الحالات من اليرقان التي تبدي فرطاً بالبيليروبين المقترن في الدم ناجم عن انسداد دقيق في القنيات الصفراوية داخل الكبدية بسبب تورم (انتفاخ) الخلايا الكبدية المتضررة (كما هو الحال في التهاب الكبدى الوبائي).

2– اليرقان المزمن مجهول السبب (متلازمة دوبن ـ جونسن Dubin-Johnson): يتضمن هذا الاضطراب الكروموسومي الجسدي المتنحى الحميد فرط البيليروبين المقترن في الدم في مرحلة الطفولة أو خلال مرحلة البلوغ. ويكون فرط بيليروبين

الدم ناجماً بوضوح عن عيب في الإفراز الكبدي للبيليروبين المقترن إلى الصفراء. ولا يكون هذا العيب الإفرازي للمركبات المقترنة مقتصراً على البيليروبين لكنه يشتمل أيضاً إفراز الإستروجينات المقترنة والمركبات المستخدمة في الاختبارات كصبغة السلفوبروموفثالين. وتحوي الخلايا الكبدية في المنطقة الفصيصية المركزية عند المصابين بهذه المتلازمة صباغاً أسود غير طبيعي لم يحدد بعد.

3– **متلازمة روتور (Rotor)**: تتميز هذه الحالة الحميدة النادرة بفرط البيليروبين المقترن المزمن في الدم مع عدم حصول أية تبدلات نسيجية في الكبد. ولم يحدد بعد سببه الدقيق لكنه قد يكون ناجماً أيضاً عن عيب في نقل الخلايا الكبدية للأنيونات العضوية ومنها البيليروبين.

يمكن أن يرتبط بعض البيليروبين المقترن بشكل تساهمي مع الألبومين:

عندما تبقى مستويات البيليروبين المقترن مرتفعة في البلازما، فإن جزءاً منها يرتبط تساهمياً مع الألبومين (البيليروبين دلتا). ونظراً لأنه يرتبط بشكل تساهمي مع الألبومين، يكون العمر النصفي لهذا الجزء في البلازما أطول مما للبيليروبين المقترن المألوف. وبهذا الشكل فإنه يبقى مرتفعاً خلال طور الشفاء من اليرقان الانسدادي بعد أن يهبط مستوى بقية البيليروبين المقترن إلى الحدود السوية؛ وهذا يفسر استمرار المظهر اليرقاني عند بعض المرضى بعد عودة مستويات البيليروبين المقترن إلى القيم السوية.

يعد اليوروبيلينوجين والبيليروبين في البول من المؤشرات السريرية:

توجد في الحالة السوية مقادير زهيدة من مولد اليوروبيلينوجين في البول. وفي حالة انسداد القناة الصفراوية بشكل كامل لا يوجد اليوروبيلينوجين في البول، لأنه لم يعد بمقدور البيليروبين الوصول إلى الأمعاء، حيث يمكن تحويله إلى اليوروبيلينوجين. وفي هذه الحالة يدل وجود البيليروبين (المقترن) في البول دون وجود اليوروبيلينوجين على اليرقان الانسدادي إما داخل الكبد أو بعد الكبد.

تؤدي زيادة إنتاج البيليروبين، في اليرقان الانحلالي، إلى ازدياد إنتاج اليوروبيلينوجين، الذي يظهر في البول بكميات كبيرة. ولا يوجد البيليروبين عادة في البول باليرقان الانحلالي (لأن البيليروبين غير المقترن لا يمر إلى البول)، بحيث أن التواجد المشترك لزيادة اليوروبيلينوجين مع غياب البيليروبين يفترض وجود اليرقان الانحلالي. وتؤدي زيادة التخرب الدموي من أي سبب (كفقر الدم الوبيل) بالطبع إلى ازدياد اليوروبيلينوجين في البول.

يلخص (الجدول 34-3) النتائج المخبرية لمرضى بالمسببات الثلاث المختلفة لليرقان ـ فقر الدم الانحلالي (سبب قبل الكبد) والتهاب الكبد (سبب كبدي) وانسداد القناة الصفراوية المشتركة (سبب بعد الكبد). وتكون الاختبارات المجراة على الدم (لتقدير احتمال فقر الدم الانحلالي) وعلى المصل (كفعالية الإنزيمين ALT والفسفاتاز القلوية) مهمة في المساعدة على التمييز بين أسباب اليرقان قبل الكبدية والكبدية وبعد الكبدية.

الخلاصة:

تحتوي البروتينات الهيمية، كالهيموجلوبين والسيتوكرومات، على الهيم. والهيم هو بورفيرين حديدي (بروتوبورفيرين -$IX\ Fe^{2+}$) ترتبط فيه أربع حلقات من البيرول بجسور ميثينيلية. وتكون الزمر الجانبية الثمانية (الميثيل والفينيل والبروبيونيل) على الحلقات البيرولية الأربعة للهيم مرتبة بتسلسل نوعي.

يجري التخيق الحيوي لحلقة الهيم في المتقدرات والعصارة الخلوية بثماني خطوات إنزيمية، تبدأ بتشكيل δ– أمينوليفولينات (ALA) من سكسينيل -CoA والجليسين في تفاعل يحفزه سنتاز ALA، وهو الإنزيم المنظِّم للسبيل.

تؤدي الشذوذات المحددة وراثياً لسبع من الإنزيمات الثماني المساهمة في التخليق الحيوي للهيم إلى البورفيريات الوراثية. ويكون كل من كريات الدم الحمراء والكبد هما المقران الرئيسان لتعبير البورفيريات الأيضي. والمضاعفات الشائعة لهذه الحالة هي الحساسية الضوئية والمشكلات العصبية. ويمكن عند التعرض

لبعض المركبات (كالرصاص) أن تحدث بورفيريات مكتسبة. ويمكن الكشف عن الكميات الزائدة من البورفيرينات أو طلائعها في الدم والبول، مما يسهل التشخيص.

يبدأ تقويض حلقة الهيم بإنزيم أكسيجيناز الهيم، وينتج عن ذلك رباعي بيرول خطي.

إن البيليفردين هو الناتج الأولي في التقويض، ويعطي إرجاعه البيليروبين. ثم ينقل الأخير بالألبومين من الأنسجة المحيطية إلى الكبد، حيث تقبطه الخلايا الكبدية. ويحافظ على حديد الهيم والأحماض الأمينية للجلوبين ليعاد استخدامهما.

يجعل البيليروبين في الكبد ذواباً في الماء باقترانه مع جزيئين من حمض الجلوكورونيك، ويفرز في الصفراء. ويؤدي فعل الإنزيمات الجرثومية في الأمعاء إلى إنتاج اليوروبيلينوجين واليوروبيلين، اللذين يفرغان في البراز والبول.

ينجم اليرقان عن ارتفاع مستوى البيليروبين في الدم. ويمكن تصنيف أسباب اليرقان إلى قبل كبدية (مثل فقر الدم الانحلالي) وكبدية (مثل التهاب الكبد) وبعد كبدية (مثل انسداد القناة الصفراوية المشتركة). وتساعد معايرة كل من البيليروبين الإجمالي وغير المقترن في البلازما اليوروبيلينوجين والبيليروبين في البول وبعض الإنزيمات في المصل، وكذلك معاينة عينات من البراز، على التمييز بين هذه الأسباب.

الحالة	بيليروبين المصل	اليوروبيلينوجين في البول	بيليروبين البول	اليوروبيلينوجين في البراز
السوية	المباشر 0.1-0.4 مجم/ 100 مل اللامباشر 0.2-0.7 مجم/ 100مجم	0.4 مجم/24 ساعة	لا يوجد	40-280 مجم/24 ساعة
فقر الدم الإنحلالي	زيادة اللامباشر	زائد	لا يوجد	زائد
التهاب الكبد	زيادة المباشر واللامباشر	ينقص بوجود انسداد دقيق	موجود بحدوث انسداد دقيق	ناقص
اليرقان الانسدادي (1)	زيادة المباشر	لا يوجد	موجود	آثار زهيدة أو لا يوجد

الجدول 3-34: النتائج المخبرية عند أفراد أسوياء ومرضى بالمسببات الثلاثة المختلفة لليرقان.
(1) إن الأسباب الأكثر شيوعاً لليرقان الانسدادي (بعد الكبد) هي سرطانة رأس البنكرياس والحصوة المرارية المنحشرة في القناة الصفراوية الأصلية. ويعرف وجود البيليروبين في البول باسم البيلة الصفراوية أحياناً، وبذلك يسبب كل من التهاب الكبد وانسداد القناة الصفراوية المشتركة اليرقان مع بيلة صفراوية، في حين يعرف يرقان فقر الدم الانحلالي بأنه دون بيلة صفراوية. وتكون النتائج المخبرية عند المرضى بالتهاب الكبد متفاوتة، بحسب درجة الأذى في الخلايا المتنية ودرجة الانسداد الدقيق في القنيات الصفراوية. وترتفع مستويات كل من ALT و AST بوضوح في المصل عادة في التهاب الكبد، في حين ترتفع مستويات الفسفاتاز القلوية بالمصل في الداء الكبدي الانسدادي.

*** References:**

Chowdbury JR et al: Hereditary Jaundice and disorders of bilirubin metabolism. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 7th ed. Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 1995.

Desnick RJ: The porphyrias. In: *Harrison'.s Principles* of *Internal Medicine*, 13th ed. Fauci AS et al (editors). McGraw-Hill, 1998.

Elder GH: Haem synthesis and the porphyrias. In: *Scientific Foundations of Biochemistry in Clinical Prachice 2*nd ed. Williams DL, Marks V (editors). Butterworth-Heinemanne, 1994.

Isselbacher KJ: Bilirubin metabolism and hyperbilirubinemia. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 13th ed. Isselbacher KJ et al (editors). McGraw-Hill, 1 994.

Kaplan LM, Isselbacher KJ: Jaundice. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 13th ed. Fauci AS et al (editors). McGraw-Hill, 1998.

Kappas A et al: The porphyrias. In: *The Metabolic and Moleculur Bases of Inherited Disease,* 7th ed. Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill. 1995.

Kessel D: Photodynamic therapy. *Science and Medicine* 1998:5:46.

الباب الرابع

بنية الجزيئات الكبروية المعلوماتية

ووظائفها وتنسخها

Structure, Function, & Replication of Informational Macromolecules

الفصل الخامس والثلاثون

النوكليوتيدات

Nucleotides

مقدمة:

نقدم في هذا الفصل لمحة عن الأسس العطرية (الأروماتية: Aromatic) الحلقية المتغايرة (Heterocyclic): البورينات (Purines) والبيريميدينات (Pyrimidines)، ومشتقاتها الأساسية: النوكليوزيدات والنوكليوتيدات التي تقوم إلى جانب وظيفتها كمواحيد بنائية (Monomer units) للأحماض النووية بوظائف عديدة تشكل أساساً للحياة والصحة.

تضم الوظائف الأساسية للنوكليوتيدات البورينية والبَيريميدينية تفاعلات نقل الفسفات من الأتب (ATP) والنوكليوزيدات ثلاثية الفسفات الأخرى التي تسمح بتقدم التفاعلات الماصة للطاقة (Endergonic) والتي لا يمكن أن تتم دون ذلك. ويعمل كل من جلوكوز اليوريدين ثنائي الفسفات (UDP-glucose) وجالاكتوز اليوريدين ثنائي الفسفات (UDP-galactose) في مجال التخليق الحيوي للسكريات، في حين يعمل أسيل جليسرول السيتيدين ثنائي الفسفات (CDP-acylglycerol) في مجال التخليق الحيوي للشحوم (تقوم هذه المركبات بدور متوسطات عالية للطاقة ضرورية لتخليق الرابطة التكافئية (Covalent)). وتدخل النوكليوتيدات في بنية بعض التمائم الإنزيمية مثل FAD وNAD وNADP والتميم الإنزيمي A و S–أدينوزيل الميثيونين. كما تقوم النوكليوتيدات بدور تنظيمي، فينظم مستوى ADP معدل الفسفتة الأكسدية في المتقدرات، وتقوم بعض النوكليوتيدات بدور مُنظِّمات تفارغية (Allosteric) لفعالية بعض الإنزيمات. وتعمل كل من الأدينيلات الحلقية (cAMP) والجوانيلات الحلقية (cGMP) «كمرسال ثان» (Second messenger). وأخيراً، تعمل النوكليوزيدات ثلاثية الفسفات كطلائع للمواحيد البنائية للأحماض النووية: الرنا (RNA) والدنا (DNA).

الأهمية الطبية البيولوجية:

إن قدرة النوكليوتيدات على امتصاص الضوء فوق البنفسجي (كنتيجة لبنيتها الكيميائية) يجعل من هذا الضوء عاملاً مطفراً قوياً (Potent mutagen)؛ وقد طبقت مجموعة كبيرة من مضاهئات (Analogs) البورين والبيريميدين المصنعة كيميائياً في العلاج الكيميائي للسرطان والإيدز (AIDS) وحالات أخرى ذات أهمية طبية. ويمتلئ دستور أدوية اختصاصيي الأورام (Oncologists) بالعديد من مضاهئات البورين والبيريميدين ونوكليوزيداتها. وفي معظم الحالات يعتمد العلاج على دور النوكليوتيدات كطلائع للأحماض النووية وعلى حقيقة أن انقسام الخلية يجب أن يسبقه تنسخ الدنا (DNA replication). ومن بين الأمثلة المطبَّقة نذكر استخدام الألّوبورينول (Allopurinol) لمعالجة حالة فرط حمض يوريك الدم (Hyperuricemia)

والنقرس (Gout)، واستخدام الأزاثيوبرين (Azathioprine) لكبح الاستجابة المناعية وذلك في أثناء عمليات زرع الأعضاء (Organ transplantation).

في حين يكون حمض اليوريك بشكله الملحي (اليورات) ذواباً في الباهاء (pH) القلوية، إلا أنه يكون غير ذواب في البول الحمضي. هذا يعني أن نواتج تقويض البورين (الزانثين (Xanthine) وحمض اليوريك) يمكن أن توجد في حصيات (Stones) السبيل البولي. ومن بين المضاهئات الصنعية للأسس والنوكليوزيدات والنوكليوتيدات الطبيعية المستخدمة لتثبيط نمو الخلايا السرطانية وبعض الڤيروسات نذكر كلاً من المركبات التالية: 5 – فلورويوراسيل (5-Florouracil) و 5΄– يودو–2΄– ديوكسي يوريدين (5΄ Iodo-2΄ -Deoxyuridine) و 6 – ثيوجوانين (6-Thioguanine) و 6 – مركبتوبورين (6-Mercaptopurine) و 6– أزايوريدين (6-Azauridine) وسيتوزين الأرابينوزيل (Arabinosyl cytosine) تقوم هذه الأدوية بتثبيط إنزيمات معينة أو بالحلول مكان الأسس البورينية أو البيريميدينية الطبيعية في أثناء تخليق الدنا (DNA) والرنا (RNA). تفيد هذه المضاهئات أيضاً كأداة قيمة في مجال الأبحاث الطبية الحيوية.

كيمياء الأسس البورينية والبيريميدينية والنوكليوزيدات والنوكليوتيدات المتعلقة بها:

البورينات والبيريميدينات مركبات متغايرة الحلقة (غير متجانسة):

المركبات متغايرة الحلقة (Heterocyclic compounds) أو غير المتجانسة هي تلك المركبات الحلقية (Cyclic) التي تضم في بنيتها ذرات كربونية وأخرى غير كربونية (Hetero). وفي حين تكون المركبات الحلقية المتغايرة التي تضم ذرات الكبريت أو الأكسجين هامة من الناحية الحيوية والعلاجية، إلا أن الذرة الغيرية الأكثر شيوعاً في البيولوجيا هي النيتروجين.

تشكل أسس البورين والبيريميدين صنفاً من المركبات متغايرة الحلقة التي تحتوي على النيتروجين، وهي ذات أهمية حيوية بالغة. تسمى مشتقاتها الأساسية

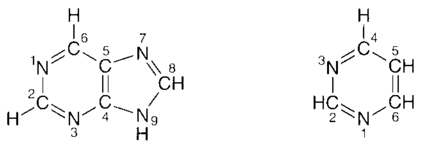
النوكليوزيدات (Nucleosides) والنوكليوتيدات (Nucleotides)، وكلها تحوي في بنيتها سكراً حلقياً (غالباً ما يكون سكراً خماسياً «البنتوز») يرتبط بذرة النيتروجين الغيرية برابطة جليكوزيدية بيتا (β-N-glycosidic) ؛ وتحوي النوكليوتيدات بالإضافة إلى ذلك مجموعة فسفورية أو أكثر مرتبطة برباط إستري مع إحدى مجموعات الهيدروكسيل في السكر.

ترقم الأسس البورينية والبيريميدينية بطرق مختلفة:

لاحظ أن حلقة البيريميدين هي الأصغر (6 ذرات) وصاحبة الاسم الأطول، بينما حلقة البورين هي الأكبر (9 ذرات) واسمها أقصر. لاحظ أيضاً أن اتجاه ترقيم ذرات حلقة البيريميدين يكون باتجاه عقارب الساعة (Clockwise) على عكس اتجاه ترقيم حلقة البورين الذي يسير بعكس اتجاه عقارب الساعة (Anticlockwise) (الشكل 35-1).

البورينات والبيريميدينات هي جزيئات مستوية:

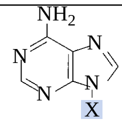
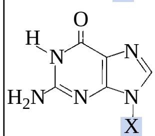
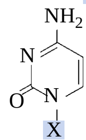
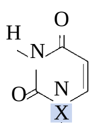
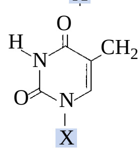
البورينات والبيريميدينات حلقات مستوية (Planar) بالضرورة، وإلا لتكدست أسس البورين والبيريميدين بشكل فضفاض داخل الحلزون ذي الطاقين (Double-stranded helices) للدنا (DNA) أو لهجين الدنا والرنا (DNA-RNA)، وضاعت ثباتية (Stability) الحلزون (الفصل 38).



الشكل 35-1 : البورينات والبيريميدينات. تم ترقيم مواضع الذرات حسب النظام الدولي.

تضم الأحماض النووية خمسةَ أسس حلقية غير متجانسة رئيسية:

إن الأسس الحلقية غير المتجانسة الأساسية (Major) الأكثر انتشاراً في الأحماض النووية هي الأدينين (Adenine) والجوانين (Guanine) من البورينات والسيتوزين (Cytosine) والثيمين (Thymine) واليوراسيل (Uracil) من البيريميدينات. جميع الأحماض النووية تحتوي على كل من الأدينين والجوانين والسيتوزين، ويحتوي الدنا (DNA) (وليس الرنا (RNA))، بالإضافة لذلك على الثيمين)، في حين يحتوي الرنا (RNA) (وليس الدنا (DNA)) على اليوراسيل أيضاً (الجدول 35-1).

صيغة الأساس	الأساس (X ـ هيدروجين)	النوكليوزيد (X ـ ريبوز أو ريبوز منزوع الأُكسجين)	النوكليوتيد (X ـ ريبوز مُفسفَت)
	الأدينين (A)	الأدينوزين (A)	أحادي فسفات الأدينوزين (AMP)
	الجوانين (G)	الجوانوزين (G)	أحادي فسفات الجوانوزين (GMP)
	السيتوزين (C)	السيتيدين (C)	أحادي فسفات السيتيدين (CMP)
	اليوراسيل (U)	اليوريدين (U)	أحادي فسفات اليوريدين (UMP)
	الثيمين (T)	الثيميدين (T)	أحادي فسفات الثيميدين (TMP)

الجدول 35-1 : الأسس والنوكليوزيدات والنوكليوتيدات

توجد معظم الأسس البورينية والبيريميدينية في الخلية بشكل نوكليوتيدات:

تتألف النوكليوزيدات من أساس بوريني أو بيريميديني وسكر حلقي غالباً ما يكون الريبوز الميمن (D-ribose) أو الريبوز الميمن منزوع الأكسجين في الموضع رقم 2 (2-deoxy-D-ribose). يرتبط السكر برابطة تكافئية جليكوزيدية بيتا مع ذرة النيتروجين رقم 9 في البورينات أو رقم 1 في البيريميدينات. ويتم ترقيم ذرات السكر بإضافة إشارة الفتحة (´) إلى الرقم (مثال ´3، ´5) لتمييزها عن ذرات الأساس. وتختلف تسمية النوكليوتيدات حسب نوع السكر، فهي تدعى النوكليوتيدات الريبية (Ribonucleotides) إذا كان السكر هو الريبوز، وتسمى النوكليوتيدات الريبية منزوعة الأكسجين (Deoxyribonuccleotides) إذا كان السكر هو الريبوز منزوع الأكسجين.

توجد المجموعات الأمينية (-Amino) والكربونيلية (-Oxo) في الحلقات غير المتجانسة بشكل مزائج صنوانية (Tautomeric):

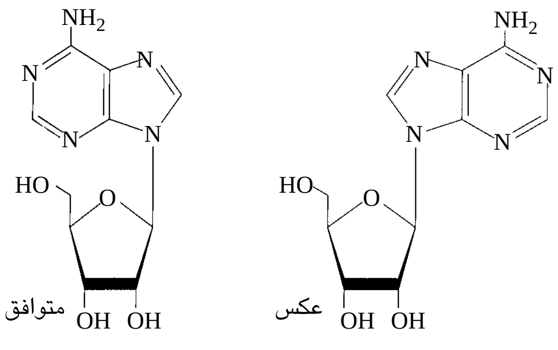
يضم الفصل الخامس عشر بين جنباته شرحاً للصنوانية (Tautomerism) الكيتونية ـ الإينولية (Keto-enol) لمجموعات الكربونيل (-Oxo) والهيدروكسيل (-Hydroxy) في الكيتوزات والألدوزات. وبسبب الخواص العطرية للبورينات أو البيريميدينات، فإن وجود المتبادلات (Substituents) الكربونيلية والأمينية يجعلها تساهم في الصنوانية كيتون ـ إينول (Keto-enol) والصنوانية أمين ـ إمين (Amine-imine) (الشكل 35-2). هذا يعني أن هذه المجموعات الوظيفية توجد على شكل مزائج صنوانية مؤلفة من ثنائيات أمينو ـ إمينو وكربونيل ـ هيدروكسيل يختلف بعضها عن بعضها الآخر بموضع ذرة الهيدروجين وبعض الإلكترونات. وبالرغم من كون الظروف الفيزيولوجية تميل بقوة إلى تشكيل المجموعات والأشكال الأمينية واللاكتامية (Lactam)، إلا أن الأشكال الصنوانية غير المفضلة قد تساهم في الأحداث المولدة للطفرات (الفصلان 39 و41).

يؤلف الجليكوزيد –N– الحلقي غير المتجانس مشكالاً (قالباً) (Conformer) متوافقاً (Syn) أو متعاكساً (Anti):

إن الإعاقة الفراغية التي تفرضها الأسس الحلقية غير المتجانسة تمنع أي دوران حر حول الرابطة الجليكوزيدية بمجرد تشكلها بين السكر والأساس البوريني أو البيريميديني. ينتج عن ذلك أن النوكليوزيدات توجد بشكل قوالب ثابتة غير متبدلة متوافقة (Syn) أو متعاكسة (Anti) (الشكل 35-3)، ولا يمكن أن يتحول أحدهما إلى الآخر إلا بتحطيم الرابطة الجليكوزيدية وإعادة تشكيلها. وفي حين يوجد كلا النمطين في الطبيعة، إلا أن القالب المتعاكس (Anti) هو السائد، وهو الذي يساهم في تزاوج الأسس في الحلزون المضاعف الدنا (DNA) في الأحوال السوية (الفصل 38).

الشكل 35-2 : صنوانيّة المجموعات الوظيفية الكربونيلية والأمينية للأسس البورينية والبَيريميدينية.





الشكل 35-3 : القوالب المتوافقة (الأيسر) والمتعاكسة (الأيمن) للأدينوزين بحسب توجه أجزائه بالنسبة للرابطة الجليكوزيدية.

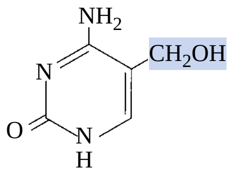
تحوي الأحماض النووية أيضاً أسساً صغرى (Minor) أو غير مألوفة (Unusual):

تحتوي بعض جزيئات الدنا (DNA) والرنا (RNA) في طليعيات (Prokaryotes) وحقيقيات النوى (Eukaryotes) بالإضافة إلى الأسس الأساسية ـ على كمية أصغر بكثير من الأسس البورينية والبيريميدينية تدعى الأسس الصغرى أو غير المألوفة. وفي الحقيقة، لا يمكن اعتبار أي من التسميتين صحيحة بالمطلق، فهذه الأسس هامة وظيفياً ولا يمكن اعتبار أهميتها الفيزيولوجية صُغرى، كما أنها أيضاً واسعة الانتشار في الطبيعة.

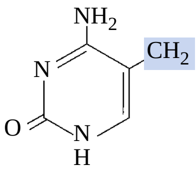
5– ميثيل السيتوزين (الشكل 35-4) موجود في دنا (DNA) كل من الجراثيم والإنسان. ومن الأسس الصغرى الموجودة في رنا (RNA) الثدييات نذكر *N*[6]– ميثيل الأدينين و *N*[6]، *N*[6] – ثنائي ميثيل الأدينين و *N*[6]، *N*[7]– ميثيل الجوانين التي نجدها في الرنا المرسال (mRNA) (الشكل 35-5)، ونجد العديد من الأسس المشتقة في الرنا النقال (tRNA) وهناك أسس صغرى أخرى توجد حصراً في الأحماض النووية الخاصة بالجراثيم والڤيروسات مثل 5– هيدروكسي ميثيل السيتوزين الموجود في دنا (DNA) العاثيات (Bacteriophage).

تلعب الأسس غير المألوفة الموجودة في الدنا (DNA) والرنا (RNA) أدواراً مهمة في مجال التعرف على قلائل النوكليوتيدات، كما تلعب دوراً في تنظيم مدة عمر النِّصف (Half-life) لجزيئات الرنا(RNA). ومن ناحية أخرى، يسمح وجود أسس نوكليوتيدية معينة مُمَثْيَلَة (Methylated) لإنزيمات الدناز (DNAses) (deoxyribonuclease) الناجمة عن العدوى بالڤيروسات أو الجراثيم بأن تميز بين قلائل النوكليوتيدات الأصلية (من داخل الجسم) والأجنبية (الغريبة عن الجسم).

تضم النوكليوتيدات التي توجد بشكل حر في الخلية كلاً من الهيبوزانثين (Hypoxanthine) والزانثين (Xanthine) (الشكل 35-6) (متوسطات (Intermediates) في عملية أيض الأدينين والجوانين) وحمض اليوريك (الناتج النهائي المؤكسد لتقويض البورين) الذي يطرحه الإنسان في البول.

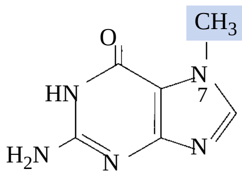


5 - هيدروكسي ميثيل السيتوزين

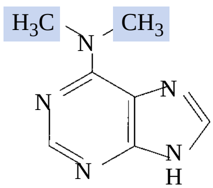


5 - ميثيل السيتوزين

الشكل 35-4 : نوعان غير شائعين من الأسس البيريميدينية موجودان في الطبيعة.

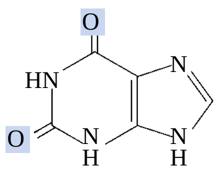


7- ميثيل الجوانين



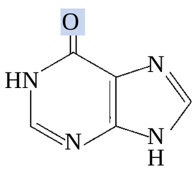
ثنائي ميثيل أمينو الأدينين

الشكل 35-5 : نوعان غير شائعين من الأسس البورينية موجودان في الطبيعة.



الزانثين

(2، 6- ثنائى أوكسو البورين)



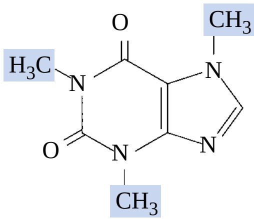
الهيبوزانثين

(6- أوكسو البورين)

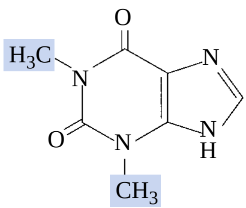
الشكل 35-6 : بنية الهيبوزانثين والزانثين.

لمشتقات البورينات النباتية المُمَثْيَلة خصائص دوائية:

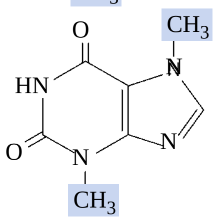
تحتوي النباتات على أسس حلقية غير متجانسة إضافية للكثير منها قيمة دوائية. من بين هذه الأسس المشتقات المُمَثْيَلة للزانثين كالكافيين (1،3،7 – ثلاثي ميثيل الزانثين) الموجود في القهوة، والثيوفيللين (1،3 – ثنائي ميثيل الزانثين) الموجود في الشاي، والثيوبرومين (3،7 – ثنائي ميثيل الزانثين) الموجود في الكاكاو (الشكل 7-35).



الكافيين
(1، 3، 7 – ثلاثي ميثيل الزانثين)



الثيوفيللين
(1، 3 – ثنائي ميثيل الزانثين)



الثيوبرومين
(3، 7 – ثنائي ميثيل الزانثين)

الشكل 7-35 : مركبات الميثيل زانثين الموجودة في الأطعمة.

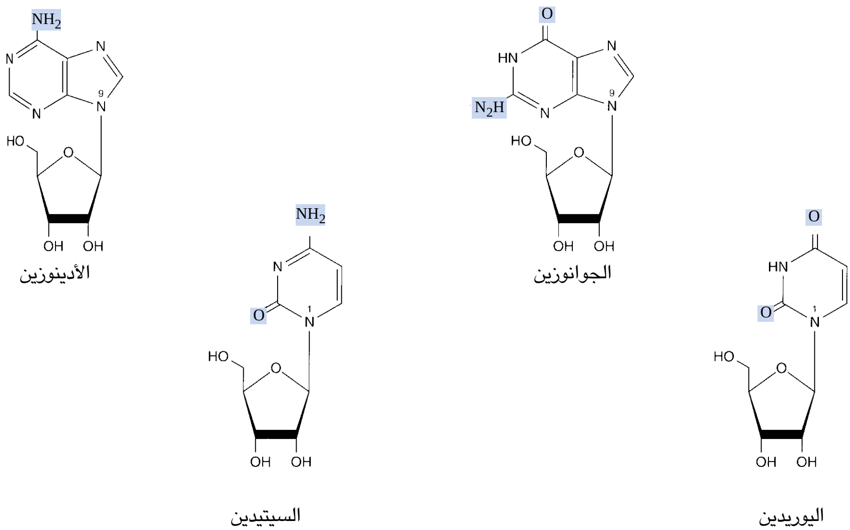
النوكليوزيدات والنوكليوتيدات هي مشتقات للبورينات والبِيَريميدينات:

تحتوي النوكليوزيدات على سكاكر أحادية:

تتألف النوكليوزيدات الريبية، التي تشتمل على الأدينوزين (Adinosine) والجوانوزين (Guanosine) والسيتيدين (Cytidine) واليوريدين (Uridine)، من

الريبوز الميمن (D-ribose) أو الريبوز المُيَمّن منزوع الأكسجين الذي يرتبط برباط جليكوزيدي بيتا مع ذرة النيتروجين رقم 9 في البورين أو ذرة النيتروجين رقم 1 في البَيريميدين (الشكل 35-8).

أما النوكليوزيدات الريبية منزوعة الأكسجين فتضم الأدينوزين منزوع الأكسجين (2´–ديوكسي الأدينوزين) والجوانوزين منزوع الأكسجين والسيتيدين منزوع الأكسجين واليوريدين منزوع الأكسجين والثيميدين «منزوع الأكسجين» (Deoxythymidine)، وبنيتها هي بنية النوكليوزيدات الريبية السابقة نفسها فيما عدا كَوْن السكر الذي يقوم بتشكيل الرباط الجليكوزيدي بيتا هو الريبوز المُيَمِّن منزوع الأكسجين في الموقع 2.

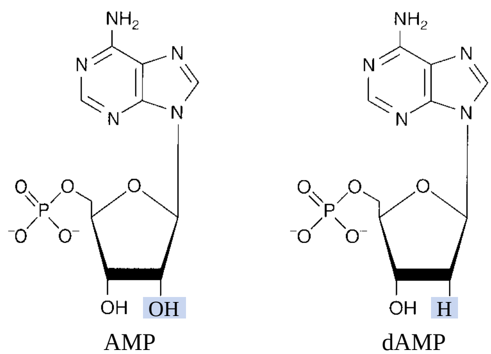


الشكل 35-8 : بنية النوكليوزيدات الريبية مرسومة بالقالب المتوافق (Syn).

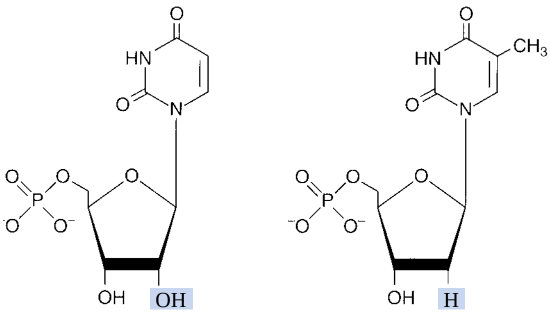
النوكليوتيدات هي نوكليوزيدات مفسفتة:

النوكليوتيدات الأحادية هي نوكليوزيدات مفسفتة (Phosphorylated) بمجموعة فسفات واحدة مرتبطة مع إحدى مجموعات الهيدروكسيل في السكر (أي أن النوكليوتيد = النوكليوزيد + فسفات) (الشكل 35-9)؛ فعلى سبيل المثال، أحادي فسفات الأدينوزين (الأمْب (AMP)) هو نوكليوتيد مكون من الأدينين + ريبوز + فسفات. ويبين الجدول 35-1 البورينات والبَيريميدينات الأساسية ومشتقاتها النوكليوتيدية والنوكليوزيدية.

ويمكن لعملية التعديل بعد الترجمة الجارية على الأسس الموجودة أصلاً ضمن عديد النوكليوتيد أن تؤدي إلى تشكيل أسس إضافية؛ ففي اليوريدين الكاذب (Pseudouridine) مثلاً يرتبط الريبوز الميمن بالكربون 5 من أساس اليوراسيل برابطة كربونية ـ كربونية، وينتج النوكليوتيد أحادي الفسفات المتشكل من هذا الأساس (أي حمض اليوريديليك الكاذب (ψ)) من عملية إعادة الترتيب اللاحقة لترجمة حمض اليوريديليك الموجود أصلاً في جزيء الرنا النقال (tRNA). وبشكل مشابه، ينتج أحادي فسفات الثيميدين (TMP). الذي يضم في بنيته الريبوز بدلاً من الريبوز منقوص الأكسجين (الشكل 35-10) عندما تُضاف مجموعة الميثيل من المركب S- أدينوزيل الميثيونين إلى النوكليوتيد UMP الموجود أصلاً في جزيء الرنا النقال (tRNA).



الشكل 35-9 : حمض الأدينيليك ((AMP) اليسار) وحمض الأدينيليك منزوع الأكسجين ((dAMP) اليمين).

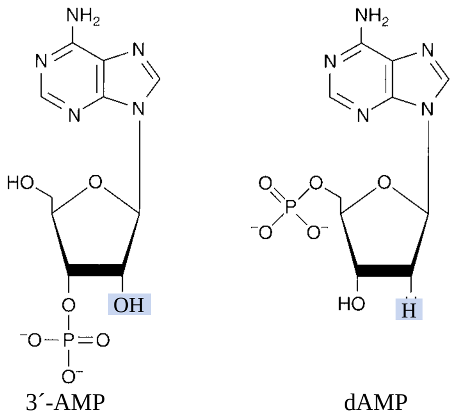


UMP TMP

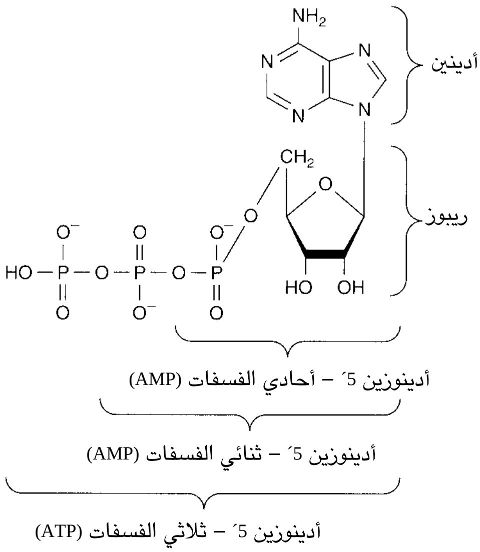
الشكل 10-35 : حمض اليوريديليك ((UMP) اليسار) وحمض الثيميديليك ((TMP) اليمين).

التسمية:

تستخدم، عادة، الاختصارات A وG و C و T وU للإشارة إلى الأسس سواء كانت بشكل حر أو ضمن نوكليوزيدات أو نوكليوتيدات الأدنين والجوانين والسيتوزين والثيمين واليوراسيل، على الترتيب. ويشير الرمز "d (deoxy)" عند وجوده إلى أن السكر هو الريبوز المُيَمَّن منزوع الأكسجين في الموضع 2/ (مثال: dGTP). تسمى النوكليوزيدات المفسفتة في الكربون رقم 3 أو الكربون رقم 3´ من الريبوز 3´– أحادي فسفات النوكليوزيد و 5´– أحادي فسفات النوكليوزيد، على الترتيب (مثال: 3´– أحادي فسفات الأدينوزين 3\AMP) (الشكل 35-11). على العموم، وبما أن الفسفتة تجري غالباً مع مجموعة الهيدروكسيل المرتبطة بالكربون 5´، لذا فقد جرت العادة على أن نحذف الرقم 5´عند تسمية النوكليوتيدات – 5´. هذا يعني أن مختصرات مثل (UMP) أو (AMP) تشير إلى النوكليوتيدات المفسفتة على كربون البنتوز رقم 5´. إن ارتباط مجموعات فسفاتية أخرى مع مجموعة الفسفات الموجودة ضمن أحادي النوكليوتيد بروابط أنهيدريدية (بلا ماء) (Anhydride) يؤدي إلى تشكيل النوكليوزيدات ثنائية وثلاثية الفسفات (Nucleosides di- & triphosphate) مثل الأدب (ADP) (ثنائي فسفات الأدينوزين) والأتب (ATP) (ثلاثي فسفات الأدينوزين) (الشكل 35-12).



الشكل 35-11 : ´3– أحادي فسفات الأدينوزين (اليسار) و ´5 – أحادي فسفات الأدينوزين – ´2– منزوع الأكسجين (اليمين).



الشكل 35-12 : الأتب (ATP) وثنائي وأحادي فسفات الأدينوزين.

تقوم النوكليوتيدات بوظائف فيزيولوجية عديدة:

تقوم بعض النوكليوتيدات بالمساهمة في تفاعلات تؤدي إلى إنجاز العديد من الوظائف الحيوية المتنوعة، والتي تشمل فيما تشمل تخليق البروتينات والأحماض النووية، والشلالات (Cascades) الناظمة وسبل تنبيغ (Transduction) الإشارات داخل الخلايا وفيما بينها. ونورد فيما يلي بعض الأمثلة على هذه الوظائف.

تتميز النوكليوزيدات ثلاثية الفسفات بكامن (Potential) عالٍ ناقلٍ للمجموعات:

تمتلك الأنهيدريدات الحمضية (Acid anhydrides) كمون نقل مجموعات عالياً خلافاً لإسترات الفسفات. وتبلغ قيمة ΔG^O لتفاعل حلمهة مجموعتي الفسفات الأخيرتين في جميع النوكليوزيدات ثلاثية الفسفات نحو 7 كيلو كالوري/مول. وتمكن هذه الميزة نوكليوزيدات البورين والبَيريميدين ثلاثية الفسفات من القيام بدور العوامل الناقلة للمجموعات في العديد من تفاعلات تشكيل الروابط التساهمية (Covalent) وفي مثل هذه التفاعلات، يقترن تشطر الرابطة الأنهيدريدية الحمضية مع حدث ماص بشدة للطاقة كتخليق رابطة تساهمية. وأبرز مثال على ذلك هو بلمرة (Polymerization) النوكليوزيدات ثلاثية الفسفات لتشكيل الحمض النووي.

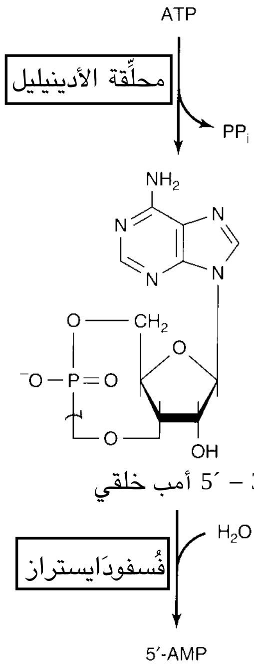
أ – مشتقات الأدينوزين: يعد الأدب (ADP) ركيزة لعملية الفسفتة الأكسدية والأتب (ATP) منتجاً لها. ويعد الأتب (ATP) الترجام (Transducer) الأساسي للطاقة الحرة. ويبلغ متوسط تركيز الأتب (ATP) (النوكليوتيد الأكثر توفراً في خلايا الثدييات) نحو 1 ملليمول / لتر.

ينتج المركب ´3، ´5– أحادي فسفات الأدينوزين الحلقي (cAMP) من الأتب (ATP) بتفاعل تتواسطه محلقة الأدينيليل (Adenylyl cyclase) (الشكل 35-13) التي يجري تنظيم فعاليتها بواسطة مجموعة معقدة من التفاعلات يتعلق الكثير منها بالمستقبلات الهرمونية (الفصل 44). ويساهم «المرسال الثاني» (cAMP) (Second messenger) في العديد من الوظائف التنظيمية في الخلايا كتنظيم فعالية إنزيم

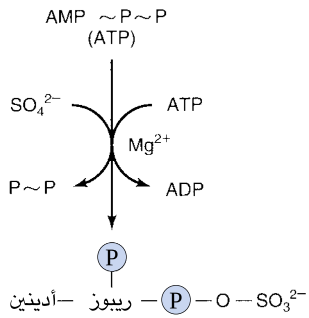
كيناز البروتين المعتمد على الأمب الحلقي (cAMP) ولأن دوره تنظيمي فقط، فالكمية المطلوبة منه داخل الخلية ضئيلة نسبياً؛ ولهذا فإن تركيزه الخلوي (نحو 1 نانومول/لتر) أقل من تركيز الأتب (ATP) بنحو ثلاث مراتب. وتجري المحافظة على هذا التركيز بالتآزر بين محلقة الأدينيليل وإنزيم فسفودايستراز الأمب الحلقي (cAMP phosphodiesterase) الذي يتواسط تفاعل حلمهة الأمب الحلقي (cAMP) محولاً إياه إلى ´5– أحادي فوسفات الأدينوزين (5´-AMP) (الشكل 35-13).

إن مركب ´3– فسفات – ´5– فسفو سلفات الأدينوزين (فسفو أدينوزين فسفو سلفات)، والذي يسمى «السلفات الفاعلة أو النشطة» (Active sulfate) (الشكل 35-14) يعمل كمعط للكبريت خلال تشكيل البروتيوجليكانات المُسَلْفَتة (Sulfated proteoglycans) (الفصل 57) أو المستقلبات البولية للأدوية التي تطرح بشكل مقترنات كبريتية.

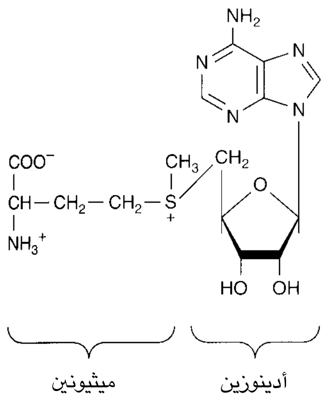
كما أن مركب S– أدينوزيل الميثيونين (الشكل 35-15) هو «الشكل الفاعل» للميثيونين، ويستخدم كمعط للميثيل في تفاعلات المَثْيَلة وكمصدر للبروبيل أمين (Propylamine) خلال تخليق عديدات الأمين (Polyamines) (الفصل 33).



الشكل 35-13 : تشكيل الأمب الحلقي (cAMP) من الأتب (ATP) بواسطة إنزيم مُحَلِّقَةُ الأدينيليل وحلمهته بواسطة الفُسفودَايستراز .



الشكل 35-14 : تشكيل الأدينوزين 3´ – فسفات –5´ – فسفو سلفات.



الشكل 35-15 : S– أدينوزيل الميثيونين.

ب – مشتقات الجوانوزين: تساهم نوكليوتيدات الجوانوزين في تحول سكسينيل التميم A إلى السكسينات حيث يقترن هذا التفاعل مع تفاعل فسفتة الـ GDP إلى GTP على مستوى الركيزة. كما يقوم النوكليوتيد GTP – المطلوب لتفعيل محلِّقة الأدينيليل خلال عمل بعض الهرمونات – بالعمل كمنظم تفارغي (Allosteric) وكمصدر للطاقة خلال تخليق البروتينات.

ويعد الـ GMP الحلقي (´3، ´5 – أحادي فوسفات الجوانوزين) "cGMP" (الشكل 35-16) أحد الإشارات داخل الخلوية أو «مرسالاً ثانياً» قد يعمل بصورة معاكسة للمركب cAMP. يتشكل المركب الحلقي cGMP اعتباراً من مركب GTP بتواسط محلقة الجوانيليل (Guanylyl cyclase) في تفاعل مماثل للتفاعل الذي تقوم به محلقة الأدينيليل. ويجري تنظيم فاعلية كلتا المحلقتين بواسطة بعض المستفعلات (Effectors) بما فيها الهرمونات. وكما هو الحال في الأمب الحلقي، يقوم إنزيم فسفودايستراز بتحويل cGMP إلى ´5– أحادي فسفات الجوانوزين ´5GMP ولا بد أن نذكر هنا أن تركيز cGMP يزداد كاستجابة للعامل المرخي المشتق من الخلايا البطانية (Endothelium-derived relaxing factor)، وهو أكسيد النيتريك (NO). تخدم هذه الزيادة كمرسال ثان رئيسي خلال الأحداث المميزة لإرخاء (Relaxation) العضلات الملساء (Smooth muscles) (الفصل 58).

ج – مشتقات الهيبوزانثين: يعد ريبونوكليوتيد الهيبوزانثين (IMP) سلفاً لجميع الريبونوكليوتيدات البورينية (الفصل 36)، وينتج عن تفاعل نزع الأمين من الأمب (AMP) كجزء من حلقة النوكليوتيدات البورينية في العضلات (الشكل 35-17). وتؤدي أمينة (Amination) الـ IMP إلى إعادة تشكيل الأمب (AMP)، بينما يؤدي نزع الفسفات (Dephosphorylation) منه إلى تشكيل النوكليوزيد المسمى إينوزين (Inosine) (ريبوزيد الهيبوزانثين)، أحد متواسطات حلقة استرداد البورينات (Purine salvage) (الفصل 36).

د – مشتقات اليوراسيل: تساهم المشتقات الناجمة عن ارتباط السكاكر بثنائي فسفات اليوريدين (UDP-sugar) في تفاعلات تشكل المصاوغات الصنوانية (Epimerization) كتفاعل التحول ما بين الجلوكوز – 1 – فسفات والجالاكتوز – 1

– فسفات. ويعمل جلوكوز اليوريدين ثنائي الفسفات (UDP-Glc) كمعط لوحدات الجلوكوز في تفاعلات التخليق الحيوي للجليكوجين والسكاكر ثنائية السكاريد الجلوكوزية (Glucosyl disaccharides). كما تعمل المشتقات الناجمة عن ارتباط السكاكر بثنائي فسفات اليوريدين (UDP-sugers) بشكل عام كمعط للسكر خلال تخليق قلائل السكريدات في البروتينات السكرية والبروتيوجليكانات (الفصلان 56 و 57). ويقوم حمض الجلوكورونيك المرتبط بالـ UDP (UDP-glucuronic acid) بدور المعطي لحمض الجلوكورونيك في تفاعلات الاقتران التي تؤدي إلى تشكيل المركبات المقترنة بالجلوكورونيد التي تطرح في البول كالبيلروبين المقترن (الفصل 34)، أو بعض الأدوية كالأسبرين.

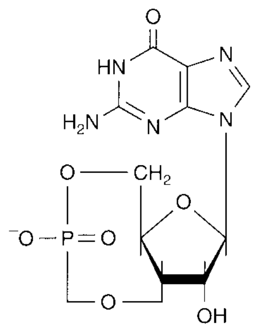
هـ – مشتقات السيتوزين: يتطلب التخليق الحيوي لبعض الفسفوجليسريدات في الأنسجة الحيوانية النوكليوتيد CTP، كما أن التفاعلات التي تتضمن السيراميد (ceramide) والـ - CDP) كولين تؤدي إلى تشكيل السفنجوميلين (Sphingomyelin) وبعض السفنجوزينات الأخرى (الفصل 26).

الكثير من التمائم الإنزيمية هي مشتقات نوكليوتيدية:

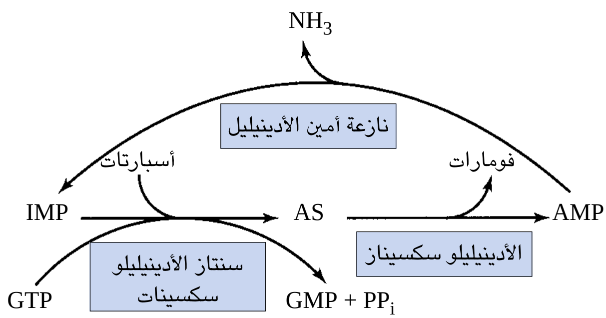
يحتوي الكثير من التمائم الإنزيمية في بنيتها على النوكليوتيدات أو بنى مشابهة لنوكليوتيدات البورين والبيريميدين (انظر الجدول 35-2 والفصل 8).

النوكليوتيدات هي أحماض متعددة المجموعات الوظيفية:

تضمن قيم ثابتة التأيُّن (p*K*) لمجموعات الفسفات الأولية (p*K*) نحو 1.0 والثانوية (p*K*) نحو 6.2 في النوكليوتيدات الأحادية أن النوكليوتيد سيحمل شحنة سالبة في الباهاء (pH) الفيزيولوجية. بالمقابل لا تملك النوكليوزيدات والأسس البورينية والبيريميدينية الحرة أية شحنة عند تلك الباهاء (pH)، إلا أنها يمكن أن تقوم بدور المعطي للبروتون أو الآخذ له عند قيم الباهاء (pH) المتراوحة بين +2 و -2 حول نقطة التعادل (Neutrality).

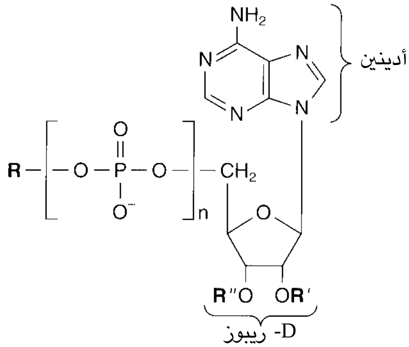


الشكل 35-16 : مركب ´5،´3 – أحادي فسفات الجوانوزين الحلقي (cGMP).



الشكل 35-17 : حلقة نوكليوتيدات البورين.

الجدول 2-35 : العديد من التمائم الإنزيمية والمركبات ذات العلاقة بها هي مشتقات
*تحتل مكان مجموعة الفسفوريل
† : R = أحد مشتقات الڤيتامينات B.



n	R\\	R\	R	التميم
0	H	H	الميثيونين*	الميثيونين الفاعل
1	H	H	حمض أميني	أدينيلات الحمض الأميني
1	PO_3^{2-}	H	SO_3^{2-}	السلفات الفاعلة
1	PO_3^{2-}	H		الأمب الحلقي (cAMP)
2	H	H	†	الناد (NAD)*
2	H	PO_3^{2-}	†	الناد المفسفت (NADP)*
2	H	H	†	الفاد (FAD)
2	PO_3^{2-}	H	†	التميم A (CoASH)

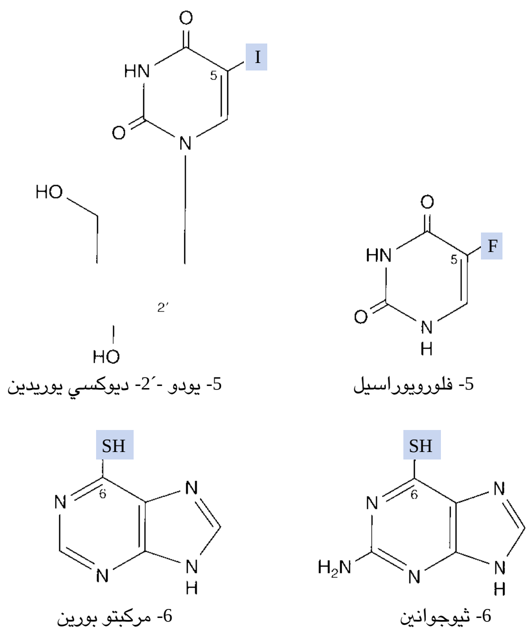
تمتص النوكليوتيدات طاقة الضوء ما فوق البنفسجي:

إن وجـود الروابط المضـاعـفـة المقـتـرنة (Conjugated) في أسس البـورين والبيريميدين الحلقية غير المتجانسة كفيل بأن تمتص النوكليوزيدات والنوكليوتيدات وعديدات النوكليوتيد الضوء فوق البنفسجي. وتكون أطياف الامتصاص هذه معتمدة على درجـة البـاهـاء (pH)، لأن إضـافـة البـروتون (Protonation) أو نزعـه (Deprotonation) سيـؤثران في توزع الشـحنات. على كل، وعند البـاهاء 7 (pH)، تمتص جميع النوكليوتيدات الشائعة الضـوء البالغ طول موجته نحو 260 نانومتراً. لذا جرت العادة بأن يعبر عن تركيـز النوكليـوتيدات والأحـمـاض النووية بمقدار «الامتصاصية (Absorbance)» عند طول الموجة 260 نم. وتتغير أطياف امتصاص النوكليوتيدات مع تغير درجة الباهاء (pH)، ومن ثم فإن الأطياف المعتمدة على تغير الباهاء (pH) ستساهم في التعرف على النوكليـوتيدات المختلفة، كما أن اعتبار الضوء فوق البنفسجي عاملاً مطفراً (Mutagen) قوياً يعود إلى قدرة النوكليوتيدات الموجودة في الدنا (DNA) على امتصاصه.

تستخدم مضاهئات النوكليوتيدات التخليقية (Synthetic) في العلاج الكيميائي:

تسـتـخدم مـضـاهـئـات الأسس البـورينيـة والبـيـريميـدينيـة ونوكليـوزيداتهـا ونوكليوتيداتها المخلقة كيميائياً على نطاق واسع في الطب السريري وأبحاث العلوم الطبية. سيؤدي إعطاء المضاهئ المعدلة حلقته غير المتجانسة أو ثمالته السكرية إلى إحداث تأثيرات سمية عندما يقحم المضاهئ داخل مكونات خلوية معينة. وتعود هذه التأثيرات إلى واحدة من العمليتين التاليتين: (1) تثبيط الدواء لإنزيمات معينة ضرورية لتخليق الأحماض النووية (2) إقحام مستقلبات هذه الأدوية داخل بنية الأحـمـاض النووية، حيث تؤثر على ازدواج الأسس الضـروري لنقل المعلومـات الوراثية بالشكل الصحيح. ويمتلئ دستور أدوية الاختصاصيين بالأورام بالعديد من المضاهئات التخليقية للبورينات والبيريميدينات ونوكليوزيداتها. وفي معظم الحالات يعتمد استخدام الدواء على دور النوكليوتيدات كطلائع للأحماض النووية، وعلى

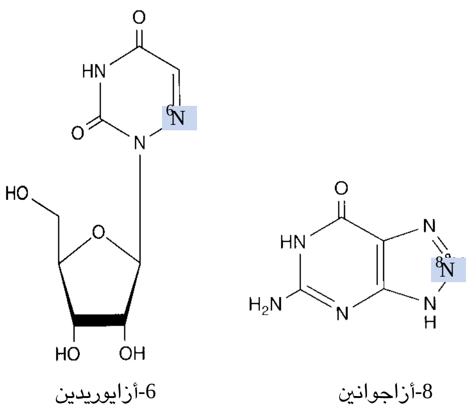
حقيقة أن انقسام الخلية يجب أن يسبقه تنسخ الدنا (DNA replication). ومن بين الأمثلة المطبقة نذكر مشتقات 5– فلورو أو 5– يودو اليوراسيل أو اليوريدين منزوع الأكسجين التي تقوم بمقام المضاهئ للثيمين أو الثيميدين، على الترتيب (الشكل 18-35)، كما يستخدم سريرياً، وعلى نطاق واسع، كل من مركب 6 – ثيوجوانين (6– Thioguanine و 6 – مركبتوبورين 6– (Mercaptopurine) اللذين استبدلت فيهما مجموعة الهيدروكسيل في الموضع 6 بمجموعة كبريتية. كما وتستخدم في العلاج الطبي مضاهئات مثل 5– أو 6– آزايوريدين (5– Azauridine or 6- و 6 – آزاسيتيدين (6-Azacytidine و 8– آزاجوانين (Azagunine)-8 (الشكل 35-19)، وهي مركبات تنتج عن استبدال ذرة كربون في الحلقة غير المتجانسة بذرة نيتروجين.



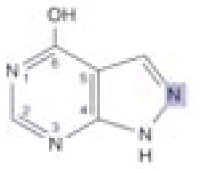
الشكل 18-35: بعض المضاهئات التخليقية المختارة للبورينات والبيريميدينات.

الألوبورينول (Allopurinol) (4 – هيدروكسي بيرازولو بيريميدين) (4- Hydroxypyrazolopyrimidine) هو أحد مضاهئات البورين، ويستخدم في علاج فرط حمض اليوريك في الدم وداء النقرس (Gout)، حيث يقوم بتثبيط التخليق الحيوي للبورينات وإنزيم أكسيداز الزانثين (Xanthine oxidase). ويستخدم النوكليوزيد سيتارابين (Cytarabine) (الأرابينوزيل سيتوزين: ara-C)، الذي ينتج عن استبدال الريبوز بالأرابينوز، في العلاج الكيميائي للسرطان والعداوى القيروسية (الشكل 35-20).

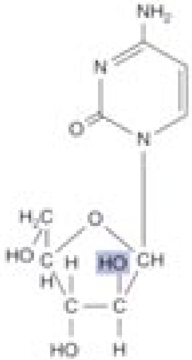
يستخدم مركب الأزاثيوبرين (Azathioprine)، الذي يقوض إلى 6– مركبتوبورين، أثناء عمليات زرع الأعضاء لكبح الأحداث المُتَضَمَّنة في الرفض المناعي. ومن بين العديد من مضاهئات النوكليوزيدات التي تمتلك فعالية مضادة للقيروسات نذكر 5 – يودو اليوريدين منزوع الأكسجين (5-Iododeoxyuridine) الفعال في علاج التهاب القرنية الهربسي (Herpetic keratitis)، وهو عدوى التهابية تصيب القرنية وتسببها القيروسات الهربسي.



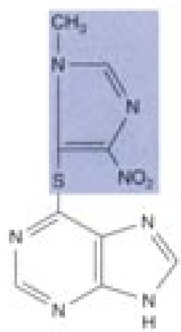
الشكل 35-19 : مركب 6– أزايوريدين (6-azauridine) (اليسار) ومركب 8 – أزاجوانين (8-azaguanine) (اليمين).



ألوبورينول
(لاكتيم)



أرابينوزيل
السيتوزين



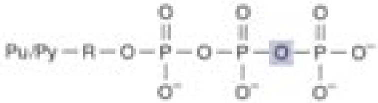
الأزاثيوبرين

الشكل 35-20 : 4– هيدروكسي بيرازولو بيريميدين (الألوبورينول) وأرابينوزيل السيتوزين (السيتارابين) والأزاثيوبرين.

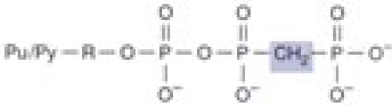
تشكل مضاهئات النوكليوزيدات ثلاثية الفسفات غير القابلة للحلمهة أدوات مهمة للأبحاث العلمية:

تزودنا المضاهئات التخليقية للنوكليوزيدات ثلاثية الفسفات بوسائل تقص مهمة من أجل الأبحاث الطبية. وتسمح هذه المضاهئات (الشكل 35-21) للباحثين بتحديد فيما إذا كانت تأثيرات النوكليوزيدات ثنائية أو ثلاثية الفسفات تتطلب نقل الفسفات،

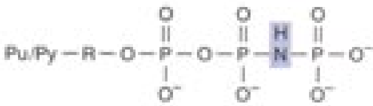
أم أن هذه التـأثيـرات تقـوم على أسـاس أن تشـغل هذه النوكليـوتيـدات مـواضع مخصصة لارتباطها موجودة في الإنزيمات أو البروتينات ذات الدور التنظيمي.



النوكليوزيد ثلاثي الفسفات الأصلي



المشتق الميثليني (بين مجموعتي الفسفات بيتا وجاما)



المشتق الإيميني (بين مجموعتي الفسفات بيتا وجاما)

الشكل 35-21 :مشتقات النوكليوزيدات ثلاثية الفسفات التخليقية التي لايمكن حلمهة مجموعة الفسفات المطرافية فيها؛ (Pu : أساس بوريني؛ Pyr: أساس بيريميديني؛ R: الريبوز أو الريبوز منزوع الأكسجين). ويظهر في أعلى الشكل النوكليوزيد ثلاثي الفسفات الأصلي (القابل للحلمهة)، وفي الوسط يظهر المشتق الميثليني وفي الأسفل المُشتق الإيميني غير القابلَين للحلمهة .

عديدات النوكليوتيد (Polynucleotides):

يمكن لمجموعة الفسفات المؤسترة في الموضع ´5 في النوكليوتيد أن تؤستر مجموعة وظيفية كحولية أخرى (OH-) مشكلة ثنائي الإستر (Diester). غالباً ما تكون هذه المجموعة في بنتوز عديد النوكليوتيد؛ فعلى سبيل المثال، نجد أنه في النوكليوتيد الحلقي (cAMP) تؤستر مجموعة الفسفات أسترة مضاعفة مع مجموعتي الهيدروكسيل في المواضع ´5 و ´3 للثمالة السكرية نفسها. وبشكل

آخر، وهو الأكثر شيوعاً، توجد مجموعة – OH الثانية في بنتوز عديد نوكليوتيد آخر فينتج عن ذلك ثنائي نوكليوتيد ترتبط فيه ثمالات البنتوز ببعضها بعضاً برابطة ´3 ⟵ ´5 فُسفودَايستر. تشكل هذه الرابطة ثنائية الإستر «العمود الفقري (Backbone)» لعديدات النوكليوتيد كالرنا (RNA) والدنا (DNA).

ثابتة التوازن K_{eq} تعطي الأفضلية لحلمهة الفُسفودَايستر:

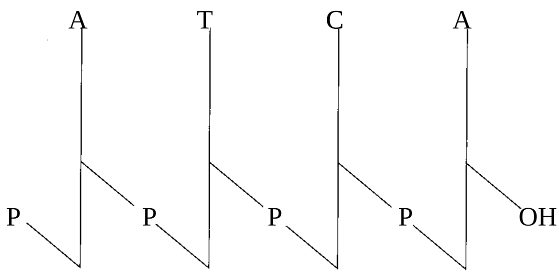
في حين يمكننا أن نمثل تشكل ثنائي النوكليوتيد على أنه حذف جزيئة ماء من زوج من المواحيد النوكليوتيدية، إلا أنه في الوسط المائي تميل K_{eq} بشدة نحو أفضلية حلمهة هذه الرابطة. وبالرغم من أن ذلك يوحي بأن الرابطة الفُسفودَايسترية الموجودة في الدنا (DNA) لا تملك الثبات الكافي لاستمرارها فترات طويلة من الزمن، إلا أن العكس هو الحقيقة. ويعود ذلك إلى حاجز الطاقة الكبير لتفاعلات الحلمهة التي تحدث بمعدلات بطيئة جداً بغياب الوسائط الإنزيمية المعروفة باسم الفُسفودَايستراز؛ وبالنتيجة يبقى الدنا (DNA) لفترات طويلة جداً لدرجة أنه تم كشفه في الأحافير (Fossils)؛ إلا أنه بوجود المحفزات تصبح حلمهة الروابط الفُسفودَايسترية سريعة (أي عند هضم الأحماض النووية). وبهذه المناسبة يجب أن نعلم أن جزيئات الرنا (RNA) أقل ثباتاً بكثير من الدنا (DNA) لأن مجموعة الهيدروكسيل ´2 تقوم بدور مجموعة أليفة للنواة (Nucleophile) خلال حلمهة الروابط الفُسفودَايسترية ـ ´3 ´5 في جزيئات الرنا (RNA).

عديدات النوكليوتيد هي جزيئات كبرية موجهة:

تربط رابطة الفسفودايستر ما بين الكربون ´3 والكربون ´5 من المواحيد المتجاورة مما يعني أن للبلمر الناتج نهايتين متمايزتين. ولذلك جرت العادة على الإشارة إلى نهايتي البلمر على أنها النهاية ´5 أو النهاية ´3 لعديد النوكليوتيد، بحيث تشير النهاية ´5 إلى تلك النهاية التي تكون فيها المجموعة الهيدروكسيلية ´5 حرة (OH-) أو مُفَسفتة.

لعديدات النوكليوتيد بنية أولية:

تنتج الخصائص الفردية لعديدات النوكليوتيد من تسلسل الأسس المكونة لها (أي بنيتها الأولية). وهناك عدة طرق لتمثيل البنية الأولية لعديدات النوكليوتيد؛ ففي الأمثلة المذكورة أدناه يمثل الحرف P أو p الرابطة الفُسفودَايسترية، ويمثل كل من الأسس بحرف واحد يعبر عنه، أما البنتوزات فتمثل بخطوط عمودية:



وعندما تكون جميع الروابط الفُسفودَايسترية من النوع 3´ ⟵ 5´، يمكن استعمال تمثيل أكثر اختصاراً كما يلي:

pGpGpApTpCpA

ويدل التمثيل السابق على أن المجموعة الهيدروكسيلية 5´ مُفَسفَتة، والمجموعة الهيدروكسيلية 3´ حرة وغير مشتقة.

وفي التمثيل الأكثر اختصاراً، يجري استعراض تسلسل الأسس فقط؛ واتفق على أن تكون النهاية 5´ في اليسار، والنهاية 3´ في اليمين:

GGATCA

الخلاصة:

توجد المجموعات الأمينية والكربونيلية في البورينات والبيريميدينات ومشتقاتها على شكل أزواج صنوانيــة: أمــينو/ إيمينو ($=NH_2/-NH_2$) وكــيــتــون / إينول (CH_2-CHO / -CH=CH-OH) وتحت الظروف الفيـزيولوجـيـة يغلب وجـود الأمـينو والكيـتون. وتقـوم الأسس البورينية والبـيريميـدينيـة بالعديد من الوظائف الأيضـيـة المتنوعة، كما هي الحال في مشتقاتها النوكليوتيدية. وتحتوي الأحماض النووية، بالإضافة إلى البورينات: الأدينين (A) والجوانين (G) والبيريميدينات: السيتوزين (C) والثيمين (T) واليوراسيل (U)، على كميات ضئيلة من بعض المشتقات مثل 5 – ميثيل سيتوزين، و5 – هيدروكسي ميثيل السيتوزين واليوريدين الكاذب (Ψ) أو بعض الأسس المُمَثْيَلَة في ذرات النيتروجين.

تحتوي النوكليوزيدات على سكر أحادي، غالباً ما يكون الريبوز المُيَمِّن أو الريبوز المُيَــمِّن منزوع الأكســجـين. ويرتبط هذا السكر مع ذرة النيــتــروجـين رقم 1 (في البيريميدين) أو رقم 9 (في البورينات) برابطة جليكوزيدية بيتا، بحيث يكون القالب المتوافق (Syn) هو السائد. والنوكليوتيدات هي إسترات فسفورية للنوكليوزيدات؛ فالنوكليوتيدات الأحادية تنتج عن أسترة المجموعة الهيدروكسيلية بمجموعة فسفات وحيدة. وعند تسمية النوكليوتيدات الأحادية، نضع رقماً يحمل إشارة فتحة يدل على موضع الفسفات (5َ GMP، 3َ AMP) مع أن 5´ يحذف على الأغلب. وتؤدي أسترة المجموعة الفسفاتية نفسها مع مجموعة هيدروكسيلية أخرى ضمن السكر نفسه إلى تشكيل المركبات الفُسفودَايسترية الحلقية (cAMP و cGMP) التي تقوم بدور «المرسال الثاني». ويؤدي ارتباط مجموعات فسفات أخرى إلى المجموعة الأولى بروابط أنهيدريدية إلى تشكيل النوكليوزيدات ثنائية وثلاثية الفسفات. وتكون لمجموعتي الفسفات الثانية والثالثة المساهمتين في بنية النوكليوزيد ثلاثي الفسفات كمون نقل مجموعات عالياً بحيث يمكنهما المساهمة في تفاعلات تشكيل الروابط التساهمية.

يشكل ارتباط النوكليوتيدات الأحادية بروابط فُسفودَايسترية بالاتجاه 3´ ⟵ 5´ عديدات النوكليوتيد، وهي جزيئات كبرية متجهة ولها نهايتان مختلفتان 3´ و 5´.

وتكون الروابط الفُسفودَايسترية ثابتة بغياب إنزيم فُسفودَايستراز الذي يتواسط حلمهتها. ويمثل تسلسلُ الأسس في عديدات النوكليوتيد بنيتها الأولية. وعند استعمال التسمية pTpGpTp أو TGCATCA تكون النهاية ´5 على اليسار وجميع الروابط الفُسفودَايسترية من النوع ´3 ⟵ ´5. وأخيراً، يستخدم العديد من المضاهئات التخليقية للأسس البورينية والبيريميدينية ومشتقاتها في العلاج الكيميائي كأدوية مضادة للسرطان.

***References:**

Adams RLP, Knowler JT, Leader DP: *The Biochemistry of the Nucleic Acids,* 11th ed. Chapman & Hall, 1992.

Blackburn GM, Gait MJ: *Nucleic Acids in Biochemistry & Biology*. IRL Press, 1990.

Bugg CE, Carson WM, Montgomery JA: Drugs by design. *Sci Am* 1992;269:92.

Saenger W: *Principles of Nucleic Acid Structure*. Springer, 1984.

الفصل السادس والثلاثون

أيض النوكليوتيدات البورينية والبيريميدينية

Metabolism of Purine and Pyrimidine Nucleotides

مقدمة:

سنعرض في هذا الفصل للمواضيع المتعلقة بالبورينات والبيريميدينات ونوكليوتيداتها من حيث هضمها وتدركها وتخليقها الحيوي وبعض الأمراض الناجمة عن العيوب الوراثية المتعلقة بهذه العمليات.

الأهمية الطبية البيولوجية:

لا تدخل الأسس البورينية والبيريميدينية الواردة عن طريق الغذاء في تركيب الأحماض النووية مباشرة ــ حتى ولو تناول الإنسان كميات كبيرة منها، فالإنسان يقوم بتخليق ما يحتاجه من البورينات والبيريميدينات لتشكيل الأحماض النووية والأتب (ATP) والناد (NAD) والتميم الإنزيمي A (Coenzyme A)... إلخ انطلاقاً من متوسطات متقالبة (Amphibolic intermediates). ومع ذلك، فإن حقن مضاهئات البورين والبيريميدين ــ بما فيها الأدوية ذات التأثير المضاد للسرطان ــ قد يؤدي إلى دمجها في الدنا (DNA).

إن التخليق الحيوي للأُكسي (Oxy) والديوكسي (Deoxy) ريبونوكليوتيدات البورينية والبيريميدينية (NTPs , dNATPs) هو من الأحداث المنظمة بدقة وتناسق عن طريق الآليات الارتجاعية التي تضمن الإنتاج بكميات ملائمة وفي أوقات ملائمة تنسجم مع مختلف المتطلبات الفيزيولوجية (كحالة الانقسام الخلوي). وتضم الأمراض البشرية التي تتضمن شذوذات في أيض البورين كلاً من داء النقرس (Gout) ومتلازمة ليش ـ نيهان (Lesch-Nyhan syndrome)، وعوز نازعة أمين الأدينوزين (Adenosine deaminase) وعوز فُسْفوريلاز نوكليوزيد البورين (Purine nucleoside phosphorylase). أما أمراض التخليق الحيوي للبيريميدين فهي أكثر ندرة وتشمل بيلة حمض الأوروتيك (Orotic aciduria). وبما أن نواتج تقويض البيريميدين (ثاني أكسيد الكربون والأمونيا وبيتا ـ أمينو إيزوبوتيرات)، خلافاً لليورات (Urate)، ذوابة في الماء، فإن عدد اضطرابات تقويض البيريميدين ذات الأهمية السريرية قليلة جداً.

ليس من الضروري أن يحتوي الغذاء على البورينات والبيريميدينات:

مع أن البشر يتناولون أحماضاً نووية ونوكليوتيدات مع الغذاء، إلا أن بقاءهم لا يتطلب امتصاصها واستخدامها؛ حيث يستطيع البشر وأغلب الفقاريات الأخرى تخليق كميات وفيرة من النوكليوتيدات البورينية والبيريميدينية المستحدثة (المخلقة من جديد أو مرة ثانية) (De Novo) (أي ابتداء من متوسطات متقالبة).

تتدرك الأحماض النووية المتناولة مع القوت إلى بورينات وبيريميدينات:

تتدرك الأحماض النووية المتحررة من البروتينات النووية في القناة المعوية إلى نوكليوتيدات أحادية الفسفات بواسطة إنزيمات الريبونوكلياز (Ribonucleases) والديوكسي ريبونوكلياز والبولي نوكليوتيداز (Polynucleotidase). ثم تقوم إنزيمات

النوكليوتيداز والفسفاتاز بحلمهة النوكليوتيدات أحادية الفسفات إلى نوكليوزيدات والتي إما أن تمتص كما هي أو تتدرك إلى أبعد من ذلك بواسطة الفُسْفوريلاز المعوية إلى الأسس البورينية والبيريميدينية. تؤكسد الأسس البورينية إلى حمض اليوريك الذي قد يجري امتصاصه ثم طرحه في البول لاحقاً.

وفي حين أنه لا يجري إدخال أي من البورينات أو البيريميدينات الغذائية في الأحماض النووية النسيجية، فإن المركبات المعطاة زرقاً أو حقناً تدخل فيها؛ فعلى سبيل المثال يدخل الثيميدين ([^{3}H] Thymidine) المحقون في بنية الدنا (DNA) حديث التخليق. يوفر هذا المبدأ طريقة لقياس معدلات تخليق (DNA) في الأحياء (in vivo) وفي المختبرات (in vitro).

التخليق الحيوي لنوكليوتيدات البورين:

تقوم جميع الكائنات الحية بتصنيع نوكليوتيدات البورين والبيريميدين باستثناء الحيوانات الأوالي الطفيلية (Parasitic protozoa). ويتم هذا التخليق من المتوسطات المتقالبة بمعدل مضبوط وملائم لجميع الوظائف الخلوية. وبما أن الحاجة للنوكليوتيدات ثلاثية الفسفات قد تتغير (كما هو الحال أثناء النمو أو عند إعادة توليد الأنسجة، ولدى حدوث الانقسام الخلوي مثلاً)، لذا تخضع معدلات التخليق الحيوي للبورينات والبيريميدين لآليات تحكم داخل خلوية تستشعر حجم تجميعات (Pools) متوسطات تخليق الأحماض النووية وتنظمه بدقة متناهية.

إن فهمنا لسبيل التخليق الحيوي للنوكليوتيدات وتنظيمه في الإنسان مستمد من اختبارات للعملية نفسها في الطيور والإشريكيّة القولونية *(Escherichia coli)*. في الحيوانات الطارحة لحمض اليوريك (Uricotelic) (مثل الطيور والبرمائيات والزواحف)، تقوم النوكليوتيدات بوظيفة أخرى هي كونها طلائع لحمض اليوريك البوريني، الناتج النهائي لتقويض النتروجين البروتيني (الفصل 31).

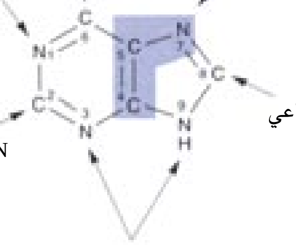
ولقد استثمر إطرح الطيور لكميات كبيرة من حمض اليوريك في الدراسات المبكرة للتخليق الحيوي للبورين؛ فقد أفادنا إطعام الحمام طلائع موسومة في تحديد

مـصــدر كل ذرة من ذرات الأسس البـورينيــة (الشكل 36-1) وفي البـدء بدارسـة تفاعلات التخليق الحيوي للبورين والمتوسطات المُساهمة فيه. كما استخدمت الطيور أيضاً في تنسيل الجينات المُرَمِّزَة لإنزيمات التخليق الحيوي للبورينات والبروتينات التي تُنَظِّم معدل التخليق هذا.

إن العمليات الثلاثة التي تساهم في التخليق الحيوي لنوكليوتيدات البورين ـ مدوَّنة حسب تناقص الأهمية ـ هي: (1) التخليق ابتداء من متوسطات متقالبة (الاستحداث أو التخليق من جديد (De novo synthesis)).

(2) إضافة الفسفوريبوزيل (Phosphoribosylation) إلى البورينات.

(3) فسفتة (Phosphorylation) نوكليوزيدات البورين.



شكل 36-1: مصادر ذرات الكربون والنتروجين في حلقة البورين. وتشتق الذرات رقم 4 و5 و7 (المظلَّلة) من الجليسين.

ينشأ أحادي فسفات الإينوزين (IMP) من متوسطات متقالبة:

أحادي فسفات الإينوزين (IMP) هو النوكليوتيد «الأب» الذي يتشكل منه كل من أحادي فسفات الأدينوزين (AMP) وأحادي فسفات الجوانين (GMP). ويبدأ تخليق IMP اعتباراً من المتوسط المتقالب ألفا – D– ريبوز –5– فسفات في سبيل يتضمن سلسلة مؤلفة من 11 تفاعلاً (الشكل 36-2) يتفرع بعدها إلى فرعين بدايتهما IMP

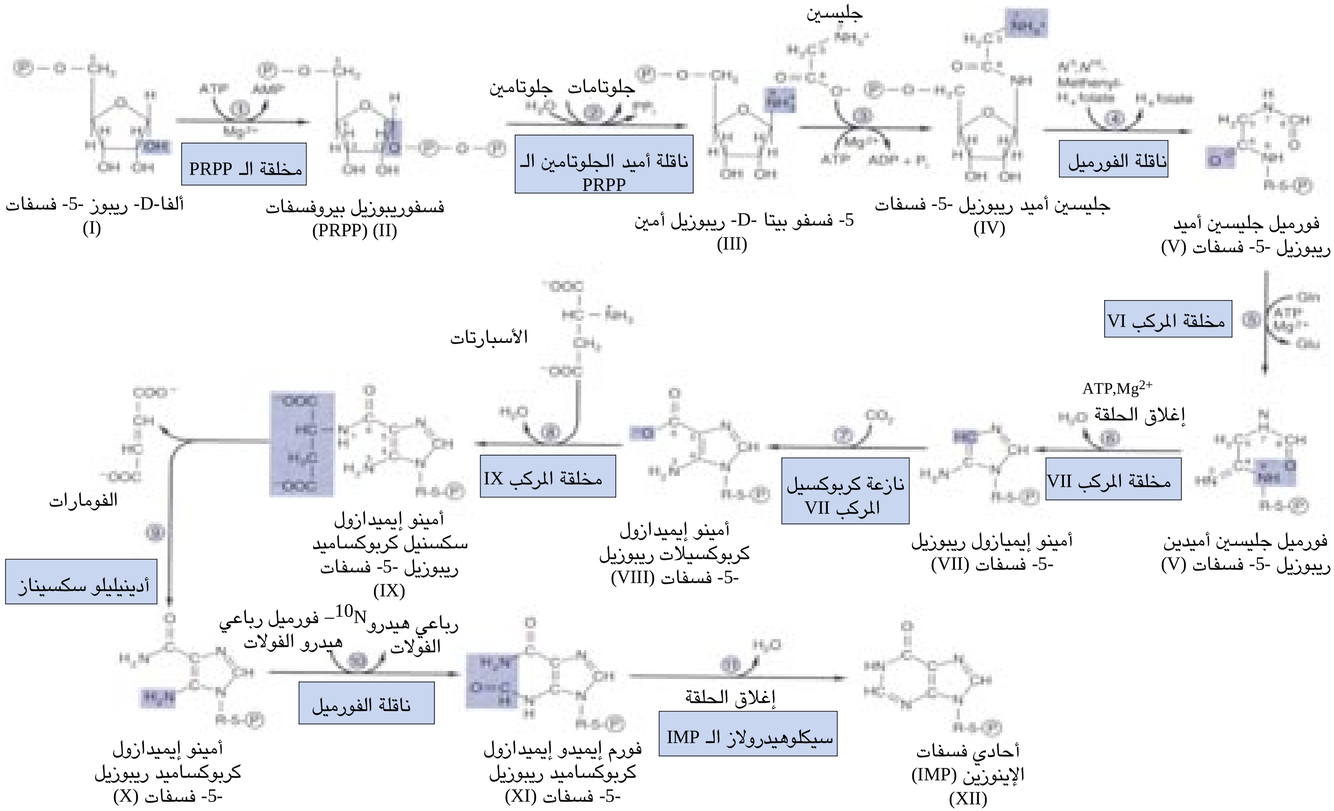
ونهاية أحدهما تشكيل الـ AMP أما الآخر فيقود إلى تشكيل الـ GMP (الشكل 3-31). يشير الترقيم العربي، فيما يلي إلى التفاعلات المرقمة الموافقة في الشكلين 2-36 و 3-36، بينما تشير الأرقام الرومانية إلى بنى المركبات في (الشكل 36-2):

(1) – بالإضافة إلى كَوْن المركب 5 – فُسْفوريبوزيل –1– بيروفسفات (II) (PRPP) (5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate) هو المتوسط الأول في طريق استحداث البورينات فهو أيضاً متوسط في سبيل إعاضة (أو إنقاذ) (Salvage) البورين وفي التخليق الحيوي للناد (NAD^+) وللناد المفسفر($NADP^+$) ونوكليوتيدات البيريميدين. ويتضمن تخليق PRPP نقل البيروفسفات من الأتب (ATP) إلى الكربون ذي الرقم 1 من ألفا –D– ريبوز –5– فسفات (I) في تفاعل تحفزه مُخَلِّقَة الـ PRPP (PRPP synthetase) .

(2)– يستخدم تخليق الرابطة الجليكوزيدية الجلوتامين كمانح للنتروجين فيتشكل 5 – فُسْفو بيتا – D– ريبوزيل أمين (III) الذي يتحول إلى 5´– فُسْفوريبوزيل – جليسين أميد بالتفاعل المُحَفَّز بمُخَلِّقَة هذا الأخير. يتضمن هذا التفاعل أيضاً قَلب الشكل الفراغي للسكر عند الكربون الأنوميري (المُصاوغة الكربونيلية) من الشكل ألفا إلى الشكل بيتا. وهذا التفاعلُ سريع ومفضل، ويعود ذلك إلى ترافقه مع تحرير البيروفسفات الذي يتحلمه إلى الأورثوفسفات اللاعضوية بواسطة إنزيم البيرو فُسْفاتاز (Pyrophosphatase) في تفاعل مطلق للطاقة بشدة (Exergonic).

(3) – يؤدي تكاثف 5 – فسفو – β – D – ريبوزيل أمين (III) مع الجليسين إلى تشكيل مركب الجليسين أميد ريبوزيل – 5 – فسفات (IV). وفي هذا التفاعل، يؤمن الجليسين الذرات التي ستصبح ذرتي الكربون 4 و5 والنتروجين رقم 7 من الـ IMP.

(4)– يشتق كربون الـ IMP رقم 8 من زمرة الفورميل في مركب N^5، N^{10}– ميثينيل رباعي هيدرو الفولات (N5,N10-methenyl tetrahydrofolate) فيتشكل فورميل جليسين أميد ريبوزيل – 5 – فسفات (V) ، ويحفز هذا التفاعل إنزيم ناقلة الفورميل للجليسين أميد ريبوزيل – 5 – فسفات (Glycinamide ribosyl-5-phosphate formyltransferase).



الشكل 36-2: سبيل استحداث (التخليق من جديد (de novo)) للبورين من الريبوز –5– فسفات والأتب (ATP) انظر النص من أجل الشرح. PO_3^{2-} ,(P) أو PO_2^- .

(5) نقل النتروجين الأميدي من الجلوتامين للمركب V يشكل فورميل جليسين أميدين ريبوزيل –5– فسفات (formylglycinamidine ribosyl -5-phosphate) (VI). ويتوسط هذا التفاعل إنزيم سينثاز الفورميل جليسين أميدين ريبوزيل –5 – فسفات (مخلقة المركب VI) الذي يضيف الذرة التي ستصبح النتروجين رقم 3 في IMP.

(6) في التفاعل الذي يحفزه إنزيم سنتاز الأمينو إيميدازول ريبوزيل – 5 – فسفات (VII) (aminoimidazole ribosyl -5- phosphate synthase) سنتاز المركب، يخسر المركب جزيء ماء وتغلق الحلقة فيتشكل مركب أمينو إيميدازول ريبوزيل – 5 – فسفات (aminoimidazole ribosyl -5- phosphate) (VII) . في هذا التفاعل يتم أولاً نقل الفسفات من الأتب (ATP) إلى الوظيفة الكربونيلية من (VI) ثم يتم الهجوم الأليف للنوى (Neucleophilic) من قبل نتروجين زمرة الأمين المجاورة فتنغلق الحلقة وتتحرر الأورثوفسفات اللاعضوية.

(7)– تؤدي إضافة CO_2 إلى (VII) إلى إضافة الذرة التي ستصبح الكربون رقم 6 في IMP. وهذا التفاعل الذي يحفزه إنزيم كربوكسيلاز الأمينو إيميدازول ريبوزيل – 5 – فسفات (Aminoimidazole ribosyl -5- phosphate carboxylase). كربوكسيلاز المركب (VII) لا يحتاج إلى الأتب (ATP) أو البيوتين، ويؤدي إلى تشكيل كَرْبوكسيلات الأمينو إيميدازول ريبوزيل – 5 – فسفات (Aminoimidazole carboxylate ribosyl -5- phosphate) أو المركب (VIII).

(8) – يتكاثف حمض الأسبارتات مع المركب VIII في تفاعل يتوسطه إنزيم سنتاز السكسينيل كربوكساميد ريبوزيل –5 – فسفات (Succinyl carboxamide ribosyl 5-phosphate synthase). هذا يؤدي إلى تشكيل مركب الأمينو إيميدازول سكسينيل كربوكساميد الريبوزيل – 5 – فسفات IX (Aminoimidazole succinyl carboxamide ribosyl-5-phosphate).

(9)– تتحرر مجموعة السكسينيل من المركب IX على شكل فومارات (Fumarate) بتحفيز إنزيم الأدينيلوسكسيناز (Adenylosuccinase). فيتشكل أمينو إيميدازول كربوكساميد الريبوزيل – 5 – فسفات (Aminoimidazole carboxamide ribosyl (X-5- phosphate) .

لاحظ أن التفاعلين 8 و 9 اللذين يؤديان إلى إضافة الذرة التي ستصبح النتروجين رقم 1 من IMP، يوازيان التفاعلين في حلقة اليوريا اللذين يؤديان إلى تحويل الأورنيثين (Ornithine) إلى أرجينين (Arginine) (الشكل 31-14).

(10) – يضاف الكربون رقم 2 من IMP في تفاعل يتضمن مشتقاً آخر لرباعي هيدرو الفولات وناقلة فورميل أخرى. ويؤدي نقل زمرة الفورميل من المركب N^{10} – فورميل رباعي هيدرو الفولات إلى المركب X لتشكيل فورم إيميدو إيميدازول كربوكساميد ريبوزيل – 5 – فسفات (Formimidazole carboxamide ribosyl X-5- phosphate).

(11)– يؤدي انغلاق حلقة المركب XI الذي يتواسطه إنزيم سيكلوهيدرولاز الـ IMP (IMP- cyclohydrolase) إلى تشكيل النوكليوتيد البوريني الأول: أحادي فسفات الإينوزين (XII).

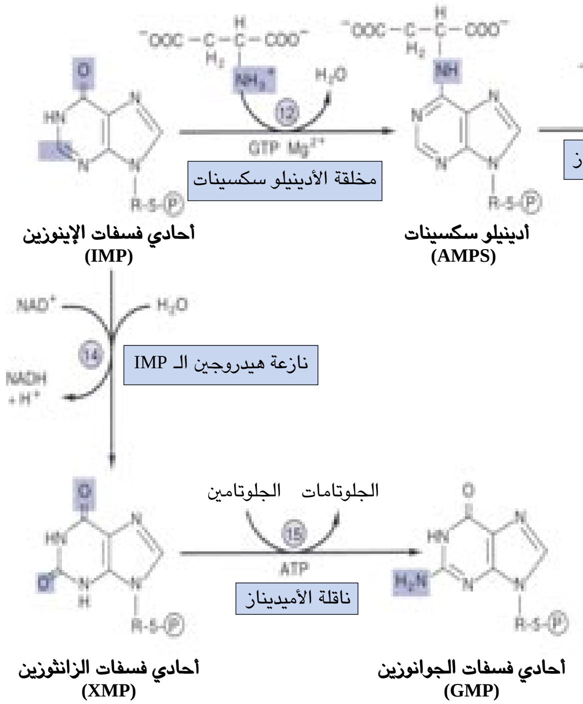
تحول IMP إلى AMP وGMP: تخليق IMP يتبعه تفرع السبيل إلى سلسلتين قصيرتين من التفاعلات تقودان إلى تشكيل AMP و GMP (الشكل 36-3).

(12) – تؤدي إضافة الأسبارتات للـ IMP إلى تشكيل أدينيلو سكسينات (Adenylosuccinate). وهذا التفاعل المحفز بسينثاز الأدينيلوسكسينات (Adenylosuccinate synthase)، وبالرغم من كونه مماثلاً ظاهرياً للتفاعل 8، فهو يتطلب GTP ، ومن ثم يؤمن مقراً مهماً لتنظيم التخليق الحيوي لنوكليوتيدات الأدنين.

(13) يتحرر الفومارات ويتشكل 5΄– أحادي فسفات الأدينوزين (AMP) في تفاعل يحفزه إنزيم أدينيلو سكسيناز (Adenylosuccinase)، وهو الإنزيم نفسه الذي يحفز التفاعل رقم 9.

(14) – تؤدي أكسدة IMP من قبل NAD^+ بوجود نازعة هيدروجين الـ IMP (IMP-dehysrogenase) إلى تشكيل أحادي فسفات الزانثوزين (XMP).

(15)– يجري تفاعل نقل الأميد (Transamidation) للزمرة 6 – أكسو (6-Oxo) من XMP بواسطة النتروجين الأميدي للجلوتامين بطريقة مماثلة للتفاعل رقم 5.

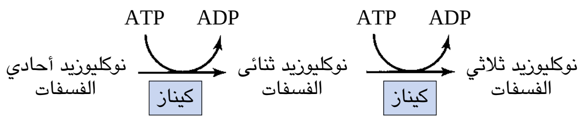


الشكل 36-3: تحول IMP إلى AMP و GMP.

نقل الفسفات من الأتب (ATP) إلى النوكليوتيدات الأحادية يُحولها إلى نوكليوزيدات ثنائية وثلاثية الفسفات:

تتحول النوكليوتيدات الأحادية AMP و GMP إلى نوكليوزيداتها ثنائية الفسفات (ADP و GDP) بنقل مجموعة الفسفوريل من الأتب (ATP) بتفاعل يتواسطه إنزيم كيناز النوكليوزيد أحادي الفسفات (Nucleoside monophosphate)؛ ثم يتحول GDP إلى GTP بواسطة إنزيم كيناز النوكليوزيد ثنائي الفسفات (Nucleoside diphosphate kinase) على حساب جزيء ATP ثان (الشكل 36-4).

أما تحول ADP إلى ATP فيتم بواسطة الفسفتة الأكسدية أولاً وبواسطة تفاعلات تحلل الجلوكوز وحلقة حمض الستريك ثانياً.



الشكل 36-4: تحول النوكليوزيدات أحادية الفسفات إلى نوكليوزيدات ثنائية وثلاثية الفسفات.

تساهم المحفزات متعددة الوظائف في التخليق الحيوي لنوكليوتيدات البورين:

في بدائيات النوى (Prokaryotes)، يحفز كل تفاعل من التفاعلات في الشكل 36-2 بعديد ببتيد مختلف. أما في حقيقيات النوى (Eukaryotes) فقد أدى الاندماج الجيني (Gene fusion) إلى الحصول على عديد ببتيد واحد يملك عدة وظائف تحفيزية. وفي التخليق الحيوي للبورينات، تقوم ثلاثة محفزات (Catalysts) متعددة الوظائف بتحفيز التفاعلات 3 و4 و 6 والتفاعلات 7 و 8 والتفاعلات 10 و 11 على الترتيب. ويوفر تعدد الوظائف هذا عدة مزايا؛ فالمواضع التحفيزية المتجاورة تسمح بالنقل الكامل والسريع للمتوسطات، ويضمن الاندماج الجيني إنتاج كميات متساوية من الفعاليات أو الأنشطة التحفيزية المختلفة.

تحصر الأدوية المضادة للفولات أو مضاهئات الجلوتامين التخليق الحيوي لنوكليوتيدات البورين:

تشتق ذرتا الكربون المدخلتان في التفاعلين 4 و 10 (الشكل 36-2) من N^5، N^{10} ميثينيل و N^{10} فورميل رباعي هيدرو الفولات. لذا فإنه يمكن لتثبيط تشكيل مركبات رباعي هيدرو الفولات أن يؤدي إلى حصر تخليق البورين. وتضم المركبات المثبطة

والتفاعلات التي تقوم بتثبيطها كلاً من الأزاسيرين (Azaserine) (للتفاعل 5) وثنائي أزانورلوسين (Diazanorleucine) (التفاعل 2) و6 – مركبتوبورين (6-Mercoptopurine) (التفاعلان 13 و 14) وحمض الميكوفينوليك (Mycophenolic acid) (التفاعل 14).

عوز البورين نادر لدى الإنسان:

تعود حالات عوز البورين في الإنسان بشكل رئيسي إلى عوز حمض الفوليك (Folic acid)، وفي بعض الأحيان إلى عوز الفيتامين B_{12} عندما يؤدي ذلك إلى عوز ثانوي في مشتقات الفولات.

تؤدي تفاعلات إعاضة أو إنقاذ "Salvage" إلى تحويل البورينات ونوكليوزيداتها إلى نوكليوتيدات أحادية:

يتم تحول البورينات وريبونوكليوزيدات وديوكسي ريبونوكليوزيدات البورين إلى نوكليوتيدات أحادية بواسطة ما يدعى بتفاعلات «الإعاضة أو الإنقاذ» التي تتطلب طاقة أقل بكثير مما يتطلبه الاستحداث (التخليق من جديد). ومن الناحية الكمية، تتضمن الآلية الأكثر أهمية تفاعل نقل الفسفوريبوزيل (Phosphoribosylation) من الـ PRPP إلى البورين الحر (Pu) مشكلاً نوكليوتيدا بورينياً أحادياً (Pu-RP):

$$Pu + PP - RP \rightarrow Pu - RP + PP_i$$

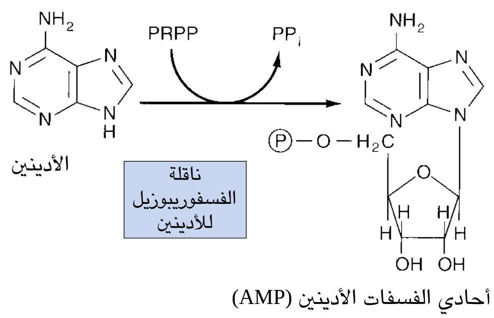
تحفز هذه التفاعلات بإنزيم ناقلة الفسفوريبوزيل للأدينين (Adenine phosphoribosyl transferase) الذي يحول الأدينين إلى AMP، (الشكل 36-5) وإنزيم ناقلة الفسفوريبوزيل للهيبوزانثين والجوانين (Hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase)، (يحول الهيبوزانثين أو الجوانين إلى IMP أو GMP، على التوالي، الشكل 36-6).

وتتضمن آلية الإعاضة أو الإنقاذ الثانية الفسفتة المباشرة لريبونوكليوزيد البورين (PuR) بواسطة الأتب (ATP):

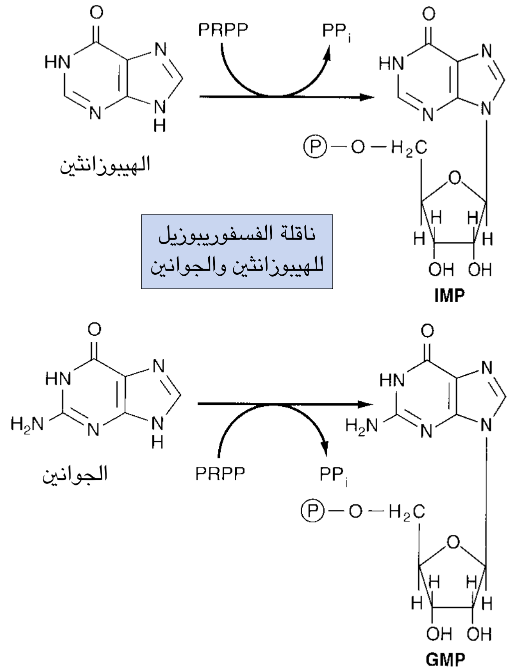
$$PuR + ATP \rightarrow PuR - P + ADP$$

يقوم إنزيم كيناز الأدينوزين بتحفيز تفاعل فسفتة الأدينوزين إلى AMP، أو ديوكسي الأدينوزين إلى dAMP. ويقوم إنزيم كيناز ديوكسي السيتيدين (Deoxycitidine kinase) بفسفتة كل من ديوكسي السيتيدين وديوكسي الأدينوزين و 2´– ديوكسي الجوانوزين إلى dCMP و dAMP و dGMP، على التوالي.

يقوم كبد الثدييات ـ الموضع الأساسي للتخليق الحيوي لنوكليوتيدات البورين ـ بتصدير البورينات ونوكليوزيداتها للأنسجة الأخرى غير القادرة على تخليقها الحيوي حيث يتم تحويلها إلى نوكليوتيدات واستخدامها؛ فعلى سبيل المثال، يحوي الدماغ البشري مستويات منخفضة من إنزيم ناقلة أميد الـ PRPP (PRPP - amidotransferase) فيعتمد بشكل جزئي على البورينات الخارجية. كما أن الكريات الحمراء والكريات البيضاء مفصصة النوى (Polymorphonuclear) لا تستطيع تخليقَ 5´ – فسفو ريبوزيل أمين فتستخدم البورينات خارجية المنشأ لتشكيل النوكليوتيدات؛ إلا أن اللمفاويات المحيطية تملك بعض القدرة على استحداث البورينات (تخليقها من جديد) بشكل كامل داخل الجسم.



الشكل 5-36: الفسفرة الريبوزيلية للأدينين والمحفزة بناقلة الفسفوريبوزيل.



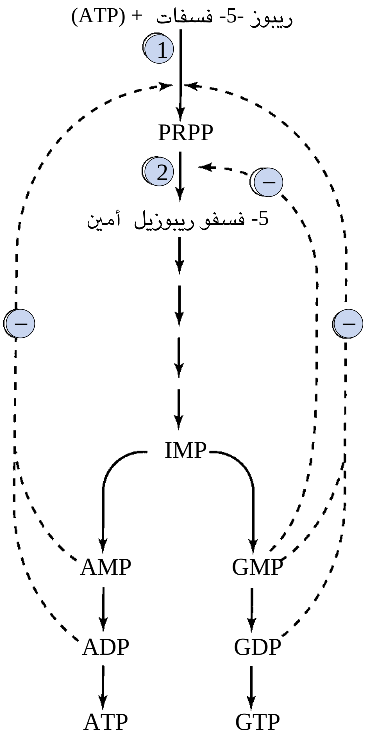
الشكل 36-6: الفسفرة الريبوزيلية للهيبوزانثين والجوانين لتشكيل IMPوGMP على الترتيب. يحفز التفاعلان بإنزيم ناقلة الفسفوريبوزيل للهيبوزانثين والجوانين.

يخضع التخليق الحيوي لنوكليوتيدات البورين في الكبد لتنظيم حازم ودقيق:

ينظم حجم تجميعة الـ PRPP التخليق الحيوي لنوكليوتيدات البورين:

بما أن التخليق الحيوي لـ IMP من المتوسطات المتقالبة يستهلك الجليسين والجلوتامين ومشتقات رباعي هيدرو الفولات والأسبرتات والأتب (ATP)، لذا يتحتم على الخلايا أن تقوم بتنظيم هذه العملية. والمحدد الأساسي لمعدل استحداث نوكليوتيدات البورين داخل الجسم هو مستوى الـ PRPP الذي يعكس المعدل النسبي لكل من تخليقه وتدركه واستخدامه. ويعتمد معدل تخليق الـ PRPP على

توفر الريبوز – 5 – فسفات وعلى نشاط سينثاز الـ PRPP الحساس لكل من تركيز الفسفات وَريبونوكليوتيدات البورين التي تعمل كمنظمات تفارغية له (الشكل 36-7).



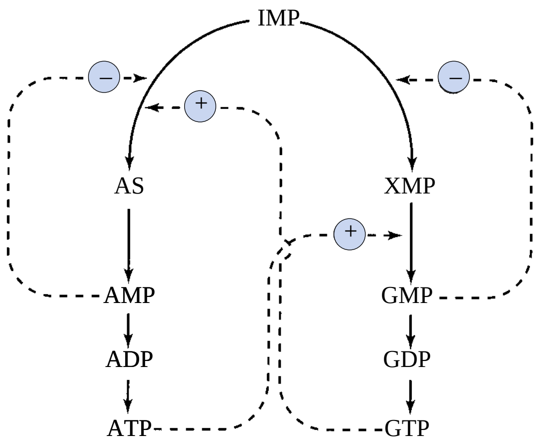
الشكل 36-7: تنظيم معدل استحداث نوكليوتيدات البورين. تمثل الخطوط المتصلة الجريان الكيميائي، وتمثل الخطوط المتقطعة التثبيط بالارتجاع (–) بواسطة النواتج النهائية للسبيل. ويحفز التفاعلين 1 و 2 سينتاز الـ PRPPوناقلة أميد الجلوتاميل للـ PRPP (الشكل 36-2)، على الترتيب.

ينظم كل من AMP و GMP نشاط إنزيم ناقلة أميد الجلوتاميل للـ PRPP:

يثبِّط الإنزيم الأول المتخصص بسبيل تخليق البورينات (إنزيم ناقلة أميد الجلوتاميل للـ PRPP (التفاعل 2 في الشكل 36-2) بآلية الارتجاع بواسطة نوكليوتيدات البورين (خاصة AMP و GMP) التي تنافس الـ PRPP على الإنزيم (الشكل 36-7). ومع ذلك، فإن تنظيم تخليق البورين عبر هذا الإنزيم أقل أهمية من الناحية الفيزيولوجية من تنظيم إنزيم مخلقة (سنتاز) الـ PRPP.

ينظم كل من AMP و GMP معدل تخليقهما من الـ IMP:

هناك آليتان تنظمان تحول IMP إلى كل من الـ GMP والـ AMP (الشكل 36-8). فـالـ AMP ينظم إنزيم سنتـاز الأدينيلو سكسـينات، ويثـبِّط الـ GMP إنزيم نازعـة هيـدروجين الـ IMP بآليـة الارتجـاع. بالإضـافـة إلى ذلك، يتطلب تحـول الـ IMP إلى أدينيلو سكسـينات في طريق تخليق الـ AMP وجـود الـ GTP ؛ كـمـا أن تحـول الزانثينيـلات (XMP) إلىGMP يتطلب وجود الأتب (ATP). وهكذا يضـمن التنظيم التبادلي ما بين سبيلي أيض الـ IMP تناقص تخليق أحد النوكليوتيدات البورينية عندما يكون هناك عوز في نوكليوتيد آخر. كما يثبط الـ AMP والـ GMP أيضاً إنزيم ناقلة الفسفو ريبوزيل للهيبوزانثين والجوانين (يحول الهيبوزانثين والجوانين إلى IMP و GMP؛ الشكل 36-6).

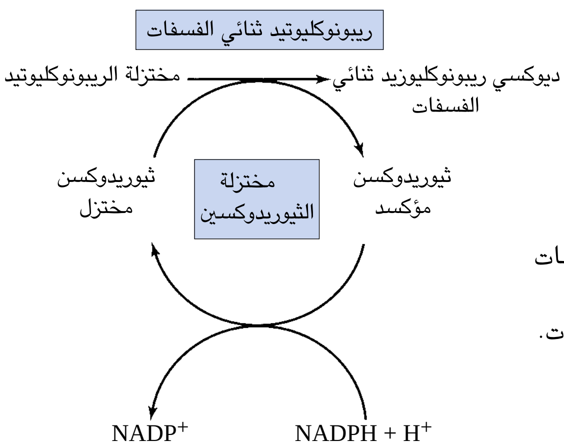


الشكل 36-8: تنظيم تحول IMP إلى نوكليوتيدات الأدينوزين ونوكليوتيدات الجوانين. تمثل الخطوط المتصلة الجريان الكيميائي، وتمثل الخطوط المتقطعة التنظيم الإيجابي (+) والسلبي (−) عن طريق الارتجاع.

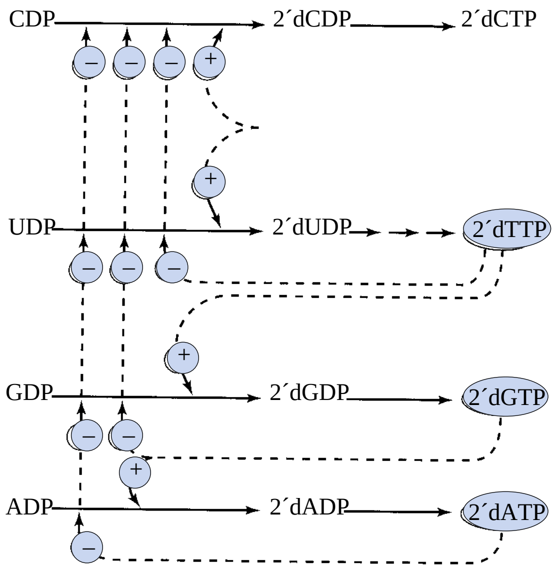
يؤدي اختـزال النوكليوزيدات ثنائية الفسفات (NDPs) إلى تشكيل النوكليوزيدات ثنائية الفسفات منزوعة الأكسجين (deoxy) (dNDPs):

يؤدي الاختـزال (الإرجاع) (Reduction) عند الكربون ´2 من ريبـونوكليوتيدات البورين والبيريميدين، والذي يحفزه المعقد الإنزيمي مختزلة الريبونوكليوتيد (Ribonucleotide reductase conplex) (الشكل 36-9)، إلى تشكيل الديوكسي ريبونوكليوزيدات ثنائية الفسفات (dNDPs). ويكون هذا المعقد فعالاً فقط عندما تخلق الخلايا الدنا (DNA) للتحضير للانقسام الخلوي. وتتطلب عملية الاختزال هذه كلاً من الثيوريدوكسين (Thioredoxin) تميم العامل البروتيني (Protein cofactor) ومختزلته (Thioredoxin reductase) (بروتين فلاڤيني) والناد المفسفت (NADPH) (وبالإضافة إلى ذلك، وفي أنواع معينة من الجراثيم وليس في الثدييات، الكوبالامين أو الڤيتامين B_{12}) ويكون المختزل المباشر لـ NDP هو الثيوريدوكسين المختزل (Reduced thioredoxin) الذي ينتج بتفاعل تحفزه مختزلة الثيوريدوكسين، وتميمها هو الناد المفسفت (NADPH:thioredoxin reductase) (الشكل 36-9).

يخضع إرجاع الريبونوكليوتيدات ثنائية الفسفات لتنظيم معقد (الشكل 36-10) يحقق إنتاجاً متوازناً من الريبونوكليوتيدات منزوعة الأكسجين المستخدمة في تخليق الدنا (DNA).



الشكل 36-9: اختزال الريبونوكليوزيدات ثنائية الفسفات إلى ´2– ديوكسي ريبونوكليوزيدات ثنائية الفسفات.



الشكل 36-10: تنظيم إرجاع ريبونوكليوتيدات البورين والبيريميدين إلى ´2 – ديوكسي ريبونوكليوتيداتها الموافقة.

التخليق الحيوي لنوكليوتيدات البيريميدين:

يستخدم التخليق الحيوي لكل من نوكليوتيدات البورين ونوكليوتيدات البيريميدين عدة طلائع مشتركة هي: PRPP والجلوتامين وثاني أكسيد الكربون (CO_2) والأسبارتات ومشتقات رباعي هيدرو الفولات؛ إلا أنه في حين أن فسفات الريبوز يدخل مبكراً في تخليق نوكليوتيدات البورين (الشكل 36-2)، فإن ارتباط ثمالة فسفات الريبوز بالنتروجين رقم 1 من أساس البيريميدين يحدث بشكل متأخر كثيراً عما هو الحال في التخليق الحيوي للبورين (الشكل 36-11).

(1) يبدأ التخليق الحيوي للبَيريميدين بتشكيل فسفات الكرباموبل (Carbamoyl phosphate) ابتداء من الجلوتامات والأتب (ATP) و CO_2. ويحفز هذا التفاعل

الإنزيم المسمى سنتاز فسفات الكربامويل II (carbamoyl phosphate synthase II) الموجود في العصارة الخلوية (Cytosol)، وهو إنزيم مختلف عن سنتاز فُسفات الكربامويل I المتقدرية (Mitochondrial carbamoyl phosphate synthase I) التي تساهم في تخليق اليوريا (الشكل 13-14). وهكذا، فالتحاوز (Compartmentation) يوفر تجميعات (Pools) مستقلة من فسفات الكربامويل لكل سبيل تخليقي.

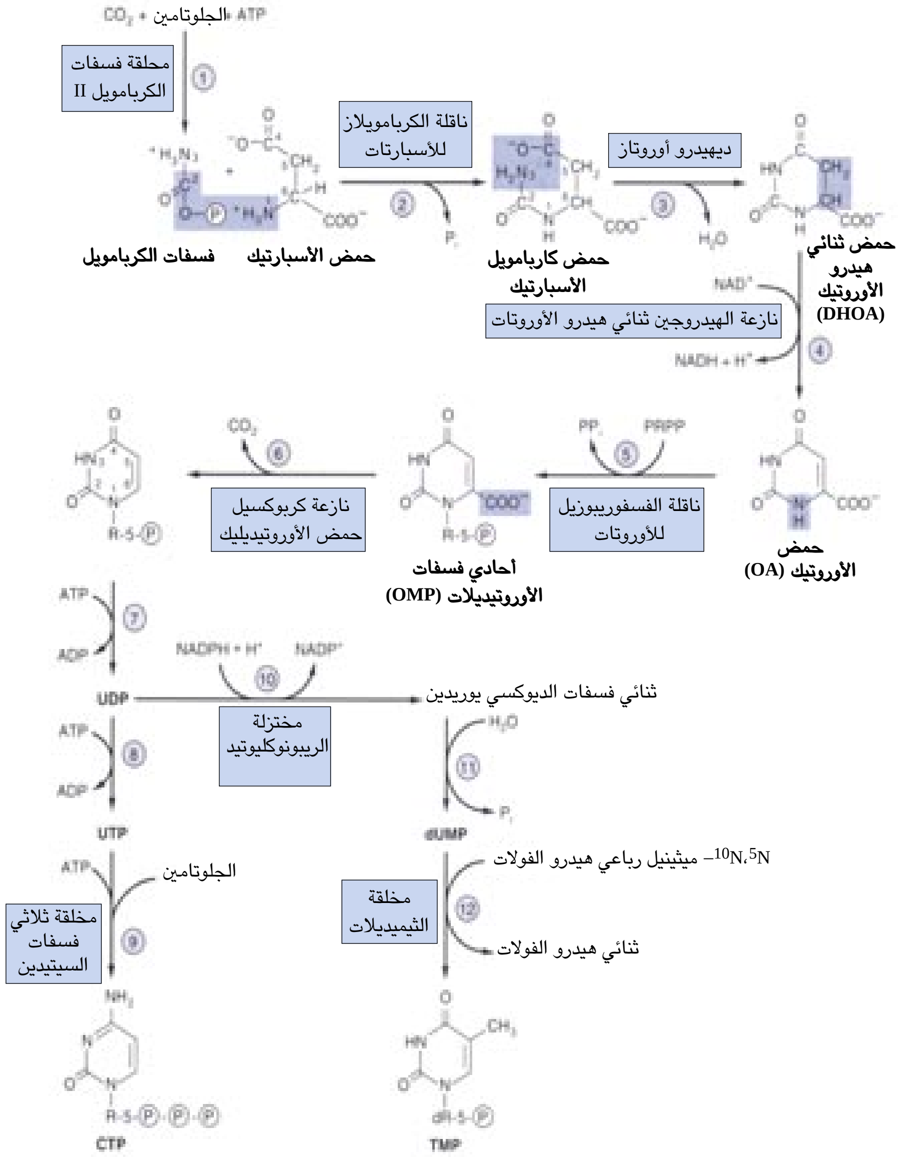
(2) يتكاثف فسفات الكربامويل مع الأسبارتات لتشكيل أسبارتات الكربامويل في تفاعل تحفزه ناقلة الكربامويل للأسبارتات (Aspartate transcarbomoylase).

(3) تغلق الحلقة بعد خسارة جزيء ماء فيتشكل حمض ثنائي هيدرو الأوروتيك (Dihydroorotic acid)، وذلك بوساطة إنزيم الديهيدروأوروتاز (Dihydroorotase).
(4) يؤدي حذف الهيدروجين من C_5 و C_6 بمساهمة الناد (NAD^+) إلى تشكيل حمض الأوروتيك (Orotic acid) الحاوي على رابطة مضاعفة. ويحفز هذا التفاعل إنزيم نازعة هيدروجين ثنائي هيدرو الأوروتات (Dihydroorotate dehydrogenase). الإنزيم الأخير هو الوحيد من بين إنزيمات التخليق الحيوي للبيريميدين الذي يوجد في المتقدرات بينما تتركز الإنزيمات الأخرى في العصارة الخلوية.

(5) يتم في التفاعل الخامس نقل فسفات الريبوز من الـ PRPP إلى حمض الأوروتيك فيتشكل أحادي فسفات الأوروتيدين (Orotidine monophosphate "OMP")، ويحفز إنزيم ناقلة الفسفوريبوزيل للأوروتات (Orotate phosphoribosyltransferase) وهكذافإن تشكيل الرابطة الجليكوزيدية بيتا يشبه تفاعلات نقل الريبوزيل الموضحة في (الشكل 36-6). ونلاحظ هنا أن نقل فسفات الريبوز لحلقة البيريميدين يتم فقط في التفاعل قبل الأخير من سبيل تخليق أحادي فسفات اليوريدين (UMP).

(6) يؤدي نزع الكربوكسيل من الأوروتيديلات (Orotidylate) إلى تشكيل أحادي فسفات اليوريدين (UMP)، وهو الريبونوكليوتيد البيريميديني الحقيقي الأول.

(8,7) يؤدي نقل الفسفات من الأتب (ATP) إلى تشكيل UDP و UTP في تفاعلات مماثلة لتفاعلات فسفرة نوكليوزيدات البورين أحادية الفسفات (الشكل 36-4).



الشكل 11-36: سبيل التخليق الحيوي لنوكليوتيدات البيريميدين.

(9) تضاف مجموعة أمينية للـ UMP فيتحول إلى CTP بواسطة الجلوتامين والأتب (ATP).

(10) يتضمن اختزال الريبونوكليوزيدات ثنائية الفسفات (NDPs إلى dNDPs) الموافقة تفاعلات مماثلة لاختزال نوكليوزيدات البورين (الشكلان 36-9 و 36-10).

(11) يمكن لمركب dUMP أن يستقبل الفسفات من الأتب (ATP) (مشكلاً dUTP، غير مبين في الشكل)؛ وبشكل بديل، وبما أن ركيزة تخليق أحادي فسفات الثيميدين (TMP) هي dUMP؛ يمكن نزع الفسفات من dUDP لتشكيل dUMP.

(12) تؤدي مَثْيلة dUMP في الكربون C-5 بواسطة N^5، N^{10} ميثيلين رباعي هيدرو الفولات سينثاز الثيميديلات (Thymidylate synthase) إلى تشكيل أحادي فسفات الثيميدين (TMP).

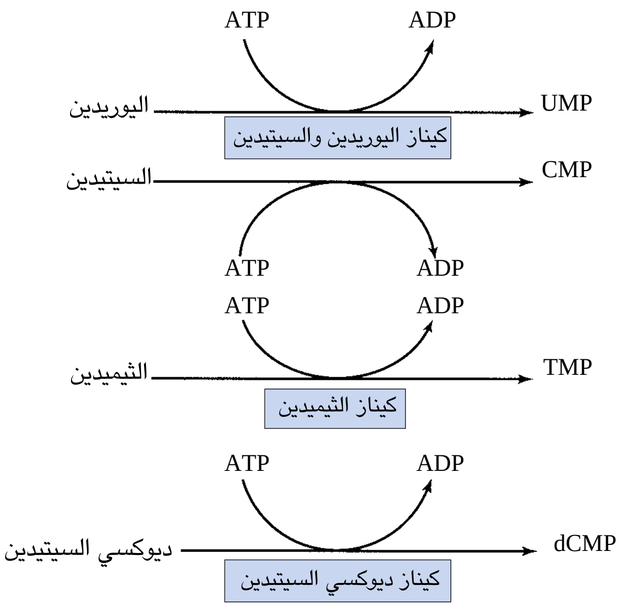
تقوم البروتينات عديدة الوظائف بتحفيز عمليات الإرجاع المبكرة خلال التخليق الحيوي للبَيريميدين:

في الإنسان والحيوانات الأخرى، تنتظم خمسة إنزيمات من بين الإنزيمات الستة الأولى في استحداث البَيريميدين بشكل عديدات ببتيد متعددة الوظائف ـ وليس كإنزيمات منفردة. والاستثناء الوحيد هو إنزيم نازعة هيدروجين ثنائي هيدرو الأوروتات (التفاعل 4). ويرمز جين واحد عديد الببتيد ذي الوزن الجزيئي 22 ك دالتون، والذي يسمى اختصاراً CAD (الأحرف الأولى من الإنزيمات الثلاثة الأولى التي يتضمنها وهي: سنتاز فسفات الكربامويل (CPS) وناقلة كرباموويل الأسبارتات (ATC) والديهيدروأوروتاز (DHO). ويتألف هذا الإنزيم متعدد الوظائف من ثلاث مناطق تحفيزية مرتبة بالشكل التالي: NH_2-DHO-CPS-ATC-COOH. ويضمن التقارب الشديد لهذه الفعاليات بأن كل فسفات الكرباموويل الناتج عن ATC، والذي يطلق عليه اسم ATC-II لتمييزه عن ATC-I العامل في التخليق الحيوي لليوريا (الفصل 31)، ستدخل سبيل التخليق الحيوي للبيريميدين. وهناك البروتين ثنائي الوظيفة، سنتاز الـ UMP (UMP synthase)، والذي يحتوي على الفعاليات الخاصة

بناقلة الفسفوريبوزيل للأوروتات (التفاعل 5) ونازعة كربوكسيل ´5 – أحادي فسفات الأوروتيدين (التفاعل 6).

يمكن استرداد ريبونوكليوزيدات اليوراسيل والسيتوزين وديوكسي ريبونوكليوزيداتهما:

في حين أن خلايا الثدييات تسترد القليل من البيريميدينات، فإن تفاعلات الإعاضة أو الإنقاذ (Salvage) تعمل على تحويل اثنين من الريبونوكليوزيدات البَيريميدينية (اليوريدين والسيتيدين) واثنين من الديوكسي ريبونوكليوزيدات (الثيميدين والديوكسي سيتيدين) إلى نوكليوتيداتها الموافقة (الشكل 36-12). ويفسفت ´2– ديوكسي السيتيدين بواسطة كيناز الديوكسي سيتيدين (Deoxycytidine kinase) الذي يقوم بفَسفَتة كل من الديوكسي جوانوزين والديوكسي أدينوزين أيضاً. كما إن إنزيم ناقلة الفسفوريبوزيل للأوروتات (التفاعل 5، الشكل 36-11)، أحد إنزيمات تخليق نوكليوتيدات البيريميدين، يحول حمض الأوروتيك إلى OMP.



الشكل 36-12: تفاعلات كيناز نوكليوزيدات البيريميدين المسؤولة عن تشكيل نوكليوزيدات البيريميدين أحادي الفسفات.

تحصر الميثوثريكسات (Methotrexate) إرجاع ثنائي هيدرو الفولات:

إن التفاعل 12 في (الشكل 36-11) هو التفاعل الوحيد ضمن تفاعلات التخليق الحيوي للبيريميدين الذي يتطلب أحد مشتقات رباعي هيدرو الفولات. وخلال عملية النقل، ترجع الزمرة الميثيلينية لمركب N^5، N^{10}– ميثيلين ـ رباعي هيدرو الفولات إلى زمرة ميثيل ويؤكسَد رباعي هيدرو الفولات إلى ثنائي هيدرو الفولات. ولمتابعة التخليق، لابد من اختزال ثنائي هيدرو الفولات إلى رباعي هيدرو الفولات، ويتم ذلك بتفاعل تحفزه مختزلة ثنائي هيدرو الفولات (Dihydrofolate reductase). ونتيجة لذلك، فإن الخلايا المنقسمة، والتي تقوم بالضرورة بتشكيل TMP وثنائي هيدرو الفولات، تكون بشكل خاص حساسة لمثبِّطات مختزلة ثنائي هيدرو الفولات. وأحد هذه المثبطات هو الدواء المضاد للسرطان واسع الانتشار، الميثوتركسات.

تعمل بعض مضاهئات البيريميدين كركائز لإنزيمات التخليق الحيوي لنوكليوتيدات البيريميدين:

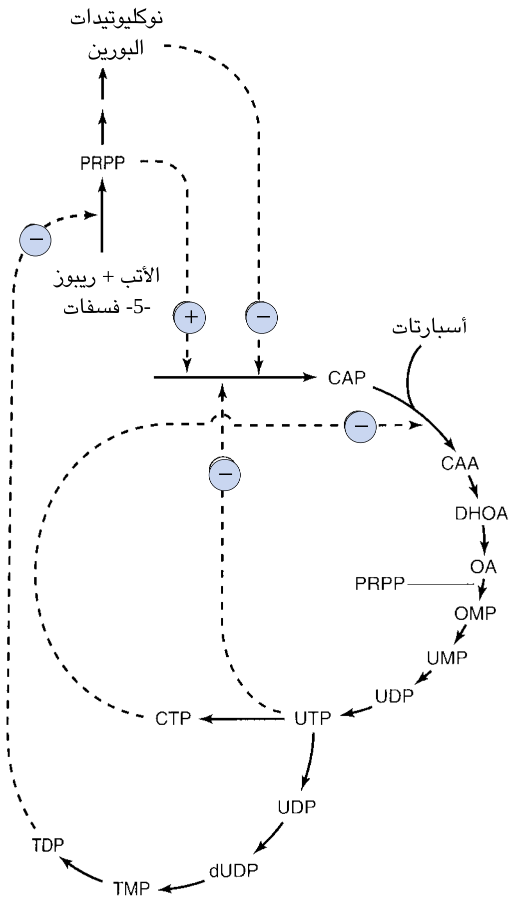
في حين لا تستطيع ناقلة الفسفوريبوزيل للأوروتات استخدام أسس البيريميدين الطبيعية كركائز، إلا أنها تحفز تحول دواء الآلوبورينول (4– هيدروكسي بيرازولو بيراميدين) إلى نوكليوتيد يرتبط فيه فسفات الريبوزيل بالنتروجين رقم 1 من حلقة البيريميدين في الآلوبورينول. كما تجري أيضاً الفسفرة الريبوزيلية للدواء 5– فلورويوراسيل المضاد للسرطان بواسطة الإنزيم نفسه.

تنظيم التخليق الحيوي لنوكليوتيد البيريميدين:

يخضع كل من التعبير الجيني والفعالية الإنزيمية للتنظيم:

يكون أول إنزيمين من سبيل التخليق الحيوي لنوكليوتيدات البيريميدين حساسين للتنظيم المتفارغ، في حين يجري تنظيم الإنزيمات الثلاثة الأولى والإنزيمين الأخيرين في ذلك السبيل على المستوى الجيني بواسطة التنسيق بين الكَظْم (Repression) وإزالة الكظم (Derepression) وتثبط سنتاز فسفات الكَرْباموِيل – II (التفاعل 1،

الشكل 36-11) بواسطة الـ UTP ونوكليوتيدات البورين، إلا أنها تنشط بالـ PRPP (الشكل 36-13). وتثبَّط ناقلة الكَرْباموييل للأسبرتات (التفاعل 2، الشكل 36-11) بالـ CTP، وتنشَّط بالأتب (ATP)، وهو مثال نموذجي للتفارغ.



الشكل 36-13: تنظيم تخليق نوكليوتيدات البيريميدين. تمثل الخطوط المتصلة الجريان الكيميائي، وتمثل الخطوط المتقطعة التنظيم الإيجابي (+) والسلبي (−) بآلية الارتجاع.

ينظم التخليق الحيوي لنوكليوتيدات البورين والبيريميدين بشكل متناسق:

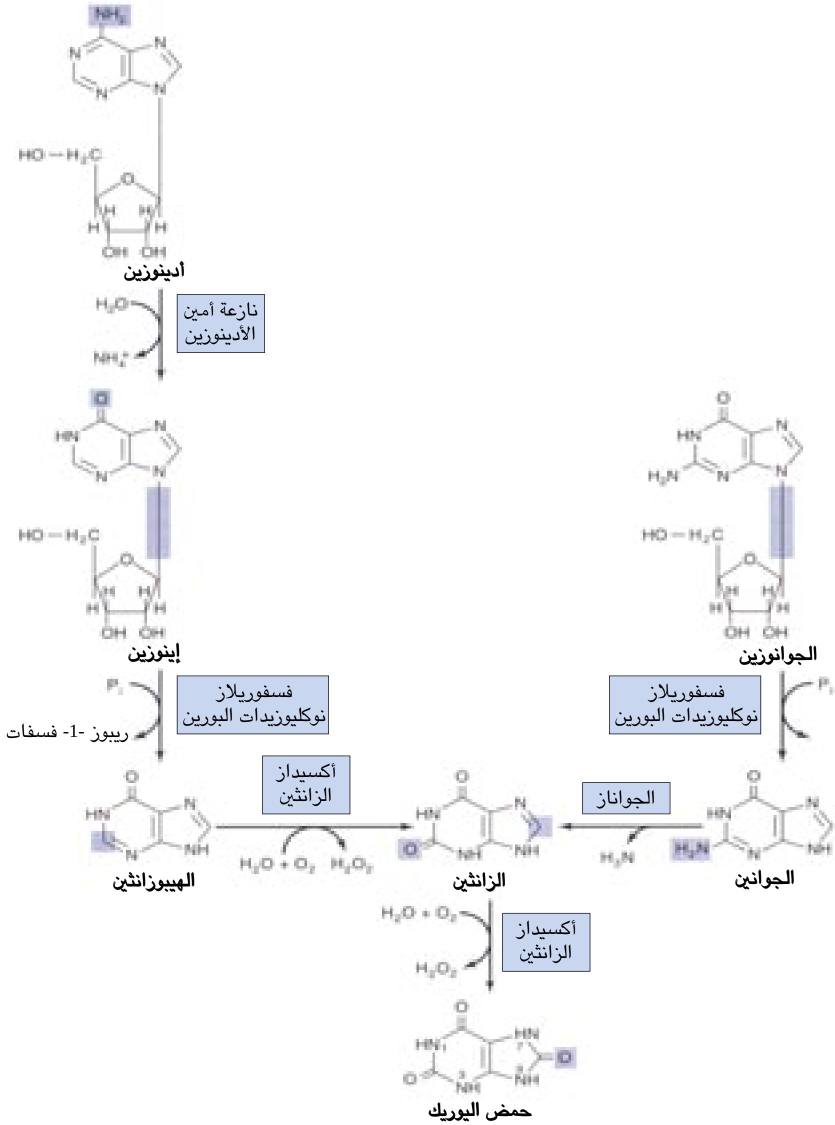
يوازي التخليق الحيوي للبيريميدين التخليق الحيوي للبورين (جزيء مقابل جزيء) مما يوحي بالتحكم المتناسق بالعمليتين. وتوجد عدة مواضع للتنظيم

المتصالب للسبيلين، فيخضع تفاعل سنتاز الـ PRPP (التفاعل 1، الشكل 36-2) المشكل للطليعة الضرورية لنوعي النوكليوتيدات للتثبيط بآلية الارتجاع من قبل نوكليوتيدات البورين والبيريميدين، بينما ينشَّط بالـ PRPP.

يقوض الإنسان البورينات إلى حمض اليوريك:

يحول الإنسان نوكليوزيدات البورين الأساسية، الأدينوزين والجوانوزين، إلى الناتج النهائي المعد للإطراح، حمض اليوريك، وذلك عبر المتوسطات والتفاعلات المبينة (بالشكل 36-14). يُنزَع الأمين من الأدينوزين بواسطة إنزيم نازعة أمين الأدينوزين (Adenosine deaminase) ليتشكل الإينوزين. ويؤدي تفاعل فَسرَلَة (Phosphorolysis) الرابطة الجليكوزيدية بيتا من الإينوزين والجوانوزين ـ المحفز بفُسْفوريلاز نوكليوزيد البورين (Purine nucleoside phosphorylase) ـ إلى تحرير الريبوز – 1 – فسفات والأساس البوريني. يتشكل بعد ذلك الزانثين من كل من الهيبوزانثين والجوانين بواسطة إنزيمي أكسيداز الزانثين (Xanthine oxidase) والجواناز (Guanase)، على الترتيب؛ ثم يؤكسد الزانثين إلى حمض اليوريك في تفاعل ثان محفز بأكسيداز الزانثين.

وهكذا يعتبر الإنزيم الأخير موضعاً محتملاً للتدخل الدوائي في المرضى المصابين بفرط حمض اليوريك في الدم (Hyperuricemia) والنقرس (Gout) (انظر لاحقاً). يبلغ متوسط الإفراغ الصافي من حمض اليوريك في الإنسان السوي 400-600 مجم/24 ساعة. ويؤثر الكثير من المستحضرات الدوائية والمركبات الطبيعية على الامتصاص والإطراح الكلوي ليورات الصوديوم (مثال: تثبِّط الجرعة الكبيرة من الأسبرين بشكل تنافسي كلا الحدثين) في الثدييات، عدا الرئيسات الراقية، يقوم إنزيم اليوريكاز(Uricase) بشطر حمض اليوريك مشكلاً الناتج النهائي شديد الانحلال بالماء «الألانتوين» (Allantoin) (الشكل 36-15)؛ إلا أنه، وبما أن الإنسان يفتقر إلى اليوريكاز، فإن الناتج النهائي لتقويض البورين لديه هو حمض اليوريك. كما أن البرمائيات والطيور والزواحف تفتقر أيضاً إلى اليوريكاز، لذا فهي تطرح حمض اليوريك والجوانين كنواتج نهائية لتقويض البورين.



الشكل 14-36: تشكيل حمض اليوريك من نوكليوزيدات البورين عبر طريق الأسس البورينية: الهيبوزانثين والزانثين والجوانين. تتدرك ديوكسي ريبونوكليوزيدات البورين بالسبيل التقويضي نفسه والإنزيمات نفسها التي توجد جميعها في مخاطية القناة الهضمية في الثدييات.

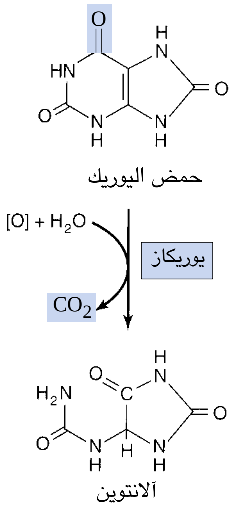
اليورات أكثر انحلالاً من حمض اليوريك:

كما هي الحال في أي حمض ضعيف، فإن نسبة الحمض الضعيف غير المتفارق (المتأين) حمض اليوريك إلى أساسه المقترن اليورات تعتمد على الباهاء (pH)، ويجب الأخذ بعين الاعتبار تفارق البروتون الأول فقط (pK_1= 5.8) لأن قيمة pK_2 للبروتون الثاني تبلغ 10.3، وهي أعلى بكثير من تلك الخاصة بالسوائل الفيزيولوجية. بناء عليه يقتصر محتوى سوائل الجسم على حمض اليوريك وأحادي صوديوم اليورات.

إن اليورات أشد انحلالاً بالماء بكثير من حمض اليوريك. ويذيب البول ذو الباهاء (pH) التي تبلغ قيمتها 5 كمية من اليورات تعادل عُشر (15 مجم/100 مل) ما يذيبه عند الباهاء (pH) المساوية للقيمة 7 (150-200 مجم/100 مل)، وتكون باهاء (pH) البول السوي عادة أقل من 5.8، ولذلك تكون البلورات في السبيل البولي هي يورات الصوديوم في المواضع القريبة من موضع تحميض البول (النبيبات القاصية والقناة الجامعة)، في حين أن حمض اليوريك يكون في المواضع الأبعد. وبما أن معظم حصيات الجملة البولية الجامعة تتألف من حمض اليوريك، لذا فإنه يمكن إنقاص تشكيل الحصيات عن طريق قلونة (Alkalinization) البول.

النقرس (Gout) خلل أيضي في تقويض البورين:

في حالات فرط حمض اليوريك في الدم، يفوق مستوى اليورات المصلي حدود ذوبانيته، مما يؤدي إلى تبلور يورات الصوديوم في الأنسجة الرخوة والمفاصل وتشكل ترسبات تدعى التوف (Tophi). تسبب هذه الأخيرة تفاعلاً التهابياً يدعى التهاب المفاصل النقرسي الحاد الذي قد يتطور إلى التهاب المفاصل النقرسي المزمن. وتعتبر مشاهدة بلورات يورات الصوديوم الإبرية مضاعفة الكسر في السائل المفصلي بالمجهر ذي الضوء المستقطب مشخصة للنقرس، حيث تأخذ البلورات اللون الأصفر عندما يكون محورها الطويل موازياً لمستوى الضوء المستقطب واللون الأزرق عندما تكون عمودية عليه.



الشكل 36-15: تحول حمض اليوريك إلى الألانتوين (هذا التفاعل لا يجري في الإنسان).

تقيس طرائق النظائر المشعة تجميعة اليورات القابلة للمزج (المزوجة):

يمكن إعطاء حمض اليوريك الموسوم وريدياً واستخدامه لحساب تجميعة اليورات المزوجة (Miscible) عند الإنسان. ويبلغ الوسطي السوي لهذه التجميعة 1200 مجم في الذكور البالغين و 600 مجم في الإناث البالغات، إلا أنها تتراوح ما بين 2000 و 4000 مجم في مرضى النقرس الذين ليس لديهم تُوَف، وقد تصل إلى 30000 مجم في المرضى الذين لديهم داء توفي متقدم (Severe tophaceous gout).

الاضطرابات الأخرى في تقويض البورين:

في حين أن حالات عوز البورين نادرة الحدوث في البشر، إلا أن هناك العديد من اضطرابات تقويض البورين الوراثية، يلخص الجدول 36-1 التظاهرات السريرية وأنماط الوراثة لعدد منها. ويمكن تمييز حالات فرط حمض اليوريك في الدم بناء على مقدار إفراغ المريض لليورات فيما إذا كان سوياً أو زائداً (أكثر من 600 مجم/24 ساعة) (الجدول 36-2). وبالرغم من أن بعض حالات فرط حمض اليوريك في الدم تعكس خللاً في إنزيمات معينة، إلا أن هناك عدداً منها يكون ثانوياً لأمراض أخرى كالسرطان والصدفية (Psoriasis) وغيرها من الأمراض التي تزيد من معدل تقلب الأنسجة (Tissue turnover).

الاضطراب	الإنزيم المعيب	نوع الخلل	الخصائص المميزة	نمط الوراثة
نقرس	مخلقة الـ PRPP	فرط نشاط (زيادة Vmax)	فرط إنتاج البورينات وإفراغها	متنح مرتبط بالجنس
نقرس	مخلقة الـ PRPP	مقاومة التثبيط بالارتجاع	فرط إنتاج البورينات وإفراغها	متنحٍّ مرتبط بالجنس
نقرس	مخلقة الـ PRPP	نقص K_m تجاه الريبوز –5 – فسفات	فرط إنتاج البورينات وإفراغها	قد يكون متنحّياً مرتبطاً بالجنس
نقرس	HGPRTase	عَوز جزئي	فرط إنتاج البورينات وإفراغها	متنح مرتبط بالجنس
متلازمة ليش – نيهان	HGPRTase	غياب تام	فرط إنتاج البورينات وإفراغها + جَدَع	متنحّ مرتبط بالجنس
عوز مناعي	نازعة أمين الأدينوزين	عوز وخيم	عوز مناعي مشترك (نقص اللمفاويات البائية والتائية) + بيلة الديوكسي أدينوزين	جَسَدي متنح
عوز مناعيّ	فُسفوريلاز نوكليوزيدات البورين	عوز وخيم	عوز مناعي (نقص اللمفاويات التائية) + بيلة الديوكسي إينوزين والجوانوزين والديوكسي جوانوزين + نقص حمض اليوريك	جَسَدي متنح
حصيات كلوية	ناقلة الفسفوريبوزيل للأدينين	غياب تام	حصيات كلوية من 8،2 – ثاني هيدروكسي الأدينين	جسدي منح
بيلة زاننثينية	أكسيداز الزانثين	غياب تام	حصيات بولية من الزانثين + نقص حمض اليوريك	جسدي متنح

الجدول 36-1 : الاضطرابات الوراثية لأيض البورينات والشذوذات الإنزيمية المرافقة لها.

PRPP: فسفوريبوزيل بيروفسفات

HGPRTase: ناقلة الفسفوريبوزيل للجوانين والهيبوزانثين (الشكل 36-6).

متلازمة ليش ـ نيهان (Lesch-Nyhan syndrome):

تتصف بفرط حمض اليوريك في الدم نتيجة فرط الإنتاج يترافق مع تشكل متكرر لحصيات حمض اليوريك ومتلازمة غريبة من التشويه (الجدع) الذاتي، وتنجم عن خلل في إنزيم ناقلة الفسفوريبوزيل للهيبوزانثين والجوانين (HGPRTase)، أحد إنزيمات إعاضة أو إنقاذ (Salvage) البورين (الشكل 36-6).

يؤدي الارتفاع المرافق في مستويات PRPP داخل الخلوي، والذي جرى توفيره من تفاعلات معاوضة البورين، إلى فرط إنتاج البورين.

وجدت عدة طفرات في الجين المرمز للإنزيم المذكور، وتتراوح نتائجها بين نقص في فعاليته وانعدامها تماماً، ومن أنواع الطفرات التي تم كشف علاقتها بهذا المرض الخَبْن (Deletion) وطفرات انزياح الإطار (Frameshift) واستبدال أساس واحد والتغيرات التي تحدث خللاً في تَضفير (Splicing) الرنا (RNA) المرسال. وتتميز الطفرات الأقل ضرراً، والتي تسبب فعالية إنزيمية ضعيفة، بفرط حاد في حمض يوريك الدم دون وجود أعراض عصبية.

داء فون جيركه (von Gierke’s disease):

يحدث فرط إنتاج البورين وفرط حمض اليوريك في دم المصابين بهذا الداء (عوز الجلوكوز – 6 – فسفاتاز) كنتيجة للإنتاج المعزز من طليعة الـ PRPP (الريبوز –5 ـ فسفات). بالإضافة إلى ذلك، يؤدي الحماض اللاكتيكي «اللبني» المرافق لهذا الداء إلى زيادة العتبة الكلوية لليورات، مما يؤدي إلى زيادة يورات الجسم الكلية.

نقص حمض اليوريك في الدم (Hypouricemia):

يترافق عوز إنزيم أكسيداز الزانثين مع نقص حمض اليوريك في الدم وزيادة إطراح الهيبوزانثين والزانثين في البول. أما سبب العوز هذا فهو إما خلل وراثي أو تخرب كبدي حاد. وفي الحالات الحادة، قد يتظاهر المرض بالبيلة الزانثينية (Xanthinuria) وحصيات الزانثين.

عوز نازعة أمين الأدينوزين وفسفوريلاز نوكليوزيدات البورين:

يترافق عوز نازعة أمين الأدينوزين مع داء عوز المناعة الحاد المشترك الذي تكون فيه كل من اللمفاويات التائية (T Cells) المشتقة من التوتة (Thymus) واللمفاويات البائية (B Cells) المشتقة من نقي العظام قليلة وغير فعالة وظيفياً.

أما عوز فُسْفوريلاز نوكليوزيدات البورين فيترافق بعوز حاد في اللمفاويات التائية فقط مع بقاء وظيفة الخلايا البائية سوية ظاهرياً.

كلاهما يتصف بكونه متنحيا ومرتبطاً بالصبغيات الجسدية. ويبدو أن الخلل المناعي ينتج من تراكم dGTP وdATP اللذين يثبطان تفارغياً إنزيم مختزلة الريبونوكليوتيد، مما يؤدي إلى استنزاف الخلايا من طلائع الدنا (DNA) وخاصة dCTP.

ينتج تقويض البيريميدينات مستقلبات ذوابة في الماء:

على عكس نواتج تقويض البورين قليلة الانحلال، فإن النواتج النهائية لتقويض البيريميدين شديدة الانحلال في الماء، وتشمل CO_2 و NH_3 والألانين بيتا وبيتا أمينو إيزوبوتيرات (β-Amino isobutyrate) (الشكل 36-16). ويزداد إطراح المركب الأخير في حالات ابيضاض الدم (Leukemia) ولدى التعرض الشديد لأشعة X، وذلك بسبب تزايد تحطيم الدنا (DNA). ويزداد إطراحه بشكل شاذ في سلالات متخالفة اللواقح لأفراد أسوياء (جين متنح).

إن نحو 25 ٪ من الأفراد ذوي الأصل الصيني أو الياباني الذين أجري عليهم الاختبار كانوا يطرحون دائماً كميات كبيرة من بيتا أمينو إيزوبوتيرات. ويمكن أن يتم في جسم الإنسان، كما باقي الحيوانات الأخرى، تفاعل نقل الأمين للمركب بيتا أمينو إيوبوتيرات فيتشكّل ميثيل المالونات نصف الألدهيدي (Methyl malonate semialdehyde) الذي يشكل بعد ذلك سكسينيل التميم A (Succinyl-CoA) (الشكل 21-2).

1– إفراغ سوي لحمض اليوريك: أسباب كلوية وراء ارتفاع حمض اليوريك في الدم.

2 – إفراغ زائد لحمض اليوريك بسبب فرط الإنتاج:

أ– ثانوي لأمراض أخرى كالسرطان والصدفية.

ب– خلل إنزيمي معروف يتسبب بفرط الإنتاج:

(1) شذوذات مخلقة الـ PRPP.

(2) أعواز إنزيم HGPRTase.

(3) عوز الجلوكوز – 6 – فسفاتاز.

جـ – عيوب غير معروفة.

الجدول 36-2 : تصنيف مرضى فرط حمض بول الدم.

يطرح اليوريدين الكاذب (Pseudouridine) دون أن يطرأ عليه أي تغيير:

حيث أنه لا يوجد أي إنزيم بشري يستطيع أن يحفز حلمهة أو فسفرة اليوريدين الكاذب، لذا فإن هذا النوكليوزيد غير العادي ـ الذي وإن كان قد اكتشف أولاً في بول الإنسان ولكنه يوجد فقط في الرنا النقّال (tRNA) ـ يطرح بشكل غير متغير في بول الأفراد الأسوياء.

نادراً ما يترافق الإنتاج المفرط لنواتج تقويض البيريميدينات بشذوذات سريرية هامة:

بما أن النواتج النهائية لتقويض البيريميدينات ذوابة في الماء، فإن فرط إنتاج البيريميدينات يؤدي إلى شذوذات قليلة ذات أهمية سريرية (الجدول 36-3). وفي حالات فرط حمض يوريك الدم الذي يرافقه فرط إنتاج الـ PRPP، يزداد إنتاج نوكليوتيدات البيريميدين ويزداد إطراح الألانين بيتا. وبما أن N^5، N^{10} ـ ميثيلين ـ رباعي هيدرو الفولات ضرورية لتخليق الثيميديلات، فإن اضطرابات أيض الفولات والڤيتامين B_{12} تؤدي إلى عوز TMP. وربما تكون بيلة حمض الأوروتيك المرافقة

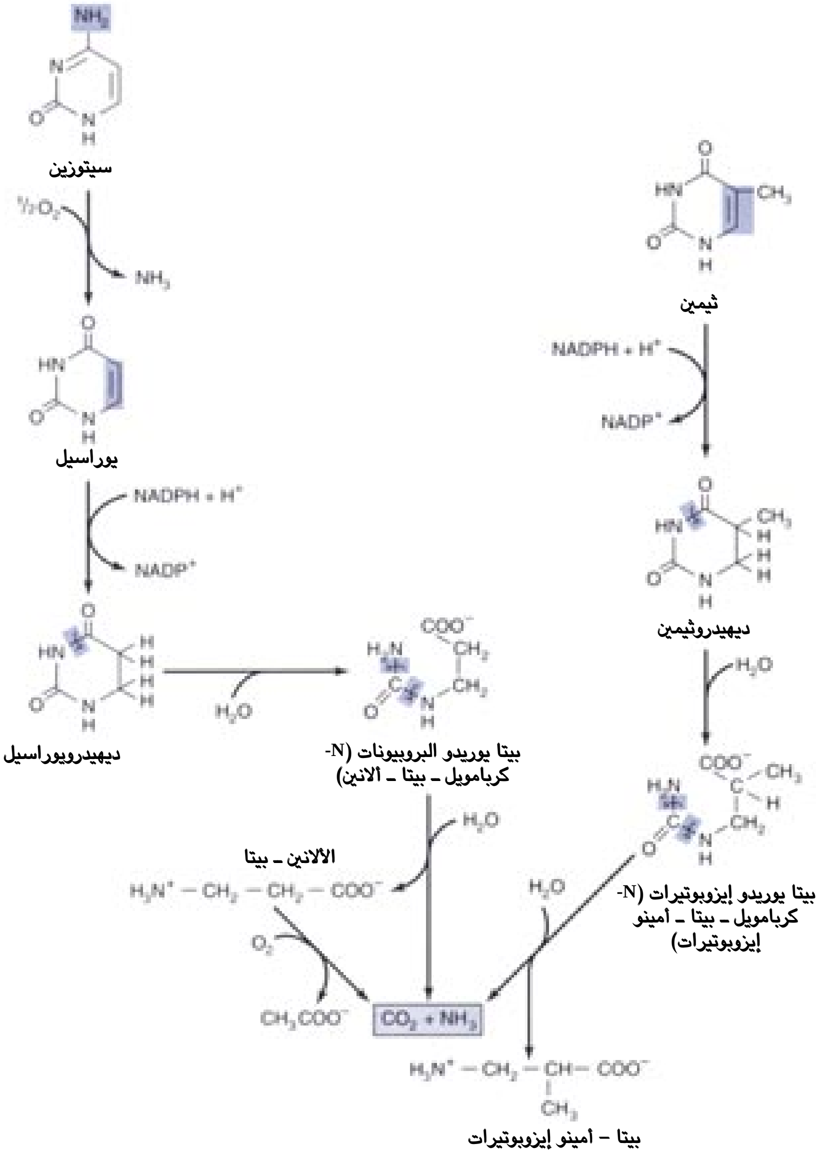
لمتلازمة راي (Reye's syndrome) تالية لعدم قدرة المتقدرات شديدة التأذي على استخدام فسفات الكَرْبامويل التي تخرج إلى العصارة الخلوية ليزداد تركيزها هناك ويزداد إنتاج حمض الأوروتيك

تستجيب بيلة حمض الأوروتيك لنوكليوزيدات البيريميدين الغذائية:

تدل بيلة حمض الأوروتيك من النمط I على عوز في كل من ناقلة الفسفوريبوزيل للأوروتات ونازعة كربوكسيل الأوروتيديلات (التفاعلان 5 و 6 في الشكل 36-11)؛ أما النمط II الأندر حدوثاً من بيلة حمض الأوروتيك فيشير إلى عوز نازعة كربوكسيل الأوروتيديلات فقط (التفاعل 6، الشكل 36-11). ويستجيب مرضى النمطين لإعطاء اليوريدين عن طريق الفم الذي ينجم عنه عودة المستويات المرتفعة جداً لأنشطة كل من ناقلة كربامويل الأسبارتات والديهيدروأوروتاز (Dihydroorotase) في مرضى النمط I إلى المستوى السوي.

الاضطراب	الإنزيم المعيب	الخصائص المميزة	نمط الوراثة
بيلة حمض البيتا أمينو إيزوبيوتيريك	ناقلة الأمين	لا عَرَضيّة ، شائعة عند الآسيَوِيّين	جسدي متنح
بيلة حمض الأوروتيك ، النمط I	ناقلة الفسفوريبوزيل للأوروتات ونازعة كربوكسل الأوروتيديلات	بلورات حمض الأوروتيك في البول ، قصور النمو ، فقر الدم الضّخم الأرومات. نقص مناعة. يتحسّن باليوريدين الفَموي.	جسدي متنح
بيلة حمض الأوروتيك ، النمط II	نازعة كربوكسيل الأوروتيديلات	بيلة الأوروتيدين وبيلة حمض الأوروتيك ، فقر الدم ضّخمُ الأرومات. يتحسّن باليوريدين الفَموي.	جسدي متنح
عَوز ناقلة الكَربامويل للأورنيثين	ناقلة الكَربامويل للأورنيثين	عدم تَحمّل البروتينات، اعتلال دماغي كبدي، بيلة حمض الأوروتيك الخفيفة	متنح مرتبط بالجنس

الجدول 36-3 : الاضطرابات الوراثية لأيض البورينات والشذوذات الإنزيمية المرافقة لها.



الشكل 16-36: تقويض البيريميدينات.

يؤدي العوز في أحد إنزيمات دورة اليوريا إلى إطراح طلائع البيريميدين:

يترافق عوز إنزيم ناقلة الكرباموويل للأورنيثين في المتقدرات الكبدية مع زيادة إطراح كل من حمض الأوروتيك واليوراسيل واليوريدين. فنقص فعالية هذا الإنزيم يؤدي إلى خروج ركيزته، فسفات الكرباموويل، إلى العصارة الخلوية حيث تنشط التخليق الحيوي لنوكليوتيدات البيريميدين. وتظهر بيلة حمض الأوروتيك الخفيفة هذه بشكل أكثر وضوحاً عند تناول طعام غني بالنتروجين.

يمكن لبيلة حمض الأوروتيك أن تنجم عن بعض الأدوية:

يمكن لمضاهئ البورين، أي الألوبورينول (الشكل 35-20)، الذي يعد ركيزة لناقلة فسفوريبوزيل الأوروتات (التفاعل 5 من الشكل 36-11)، أن يتنافس على تفاعل الفسفرة الريبوزيلية مع حمض الأوروتيك، الركيزة الطبيعية للإنزيم. بالإضافة إلى ذلك، فإن النوكليوتيد الناتج يقوم بتثبيط إنزيم نازعة كربوكسيل الأوروتيديلات (التفاعل 6 من الشكل 11-36)، مما يؤدي إلى حدوث بيلة حمض الأوروتيك وبيلة الأوروتيدين (Orotidinuria).

من جهة أخرى، وبعد تحوله إلى 6 – آزايوريديلات، يثبِّط المركب 6 – أزايوريدين نازعة كربوكسيل الأوروتيديلات (التفاعل 6 من الشكل 11-36) فيزداد إطراح حمض الأوروتيك والأوروتيدين بشكل كبير.

الخلاصة:

ليست البورينات والبيريميدينات ضرورية كعناصر في قوت الإنسان، كما أن عوز البورين نادر عند الإنسان. وتتدرك الأحماض النووية الغذائية في السبيل الهضمي إلى البورينات والبيريميدينات. وفي حين تقوم تفاعلات الإعاضة أو الإنقاذ (Salvage) بتحويل البورينات وريبونوكليوزيداتها وديوكسي ريبونوكليوزيداتها إلى النوكليوتيدات الأحادية الموافقة، تتشكل معظم البورينات والبيريميدينات ومشتقاتها

في الجسم عن طريق التخليق الحيوي بدءاً من متوسطات متقالبة. ويشمل التخليق الحيوي للنوكليوتيد البوريني الأب «أحادي فسفات الإينوزين» (IMP) سلسلة من التفاعلات المتتابعة يتواسط بعضها محفزات عديدة الوظائف. وبما أن الجلوتامين ومشتقات الفولات يساهمان في هذه التفاعلات فإن مضاهئات الجلوتامين ومضادات الفولات تُثبط التخليق الحيوي للبورينات. وتؤدي أكسدة الـ IMP وإضافة الأمين إليه إلى تشكل النوكليوتيدين AMP و GMP اللذين يتحولان إلى ADP و GDP بنقل الفسفات من الأتب (ATP). كما يؤدي نقل مجموعة فسفات أخرى من الأتب (ATP) إلى GDP إلى تشكيل GTP، بينما يتحول ADP إلى ATP بواسطة الفسفتة الأكسدية. ويخضع التخليق الحيوي الكبدي لنوكليوتيدات البورين إلى تنظيم محكم من قبل حجم تجميعة الفسفوريبوزيل بيروفسْفات (PRPP) والتثبيط بالارتجاع لإنزيم ناقلة أميد الجلوتاميل للـ PRPP من قبل النواتج النهائية AMP وGMP. ويؤدي إرجاع النوكليوتيدات ثنائية الفسفات (NDPs) إلى تشكيل الديوكسي ريبونوكليوتيدات ثنائية الفسفات (dNDPs).

في حين يجري استرجاع (معاوضة) اليوريدين والسيتيدين، فإن نوكليوتيدات البيريميدين تنشأ بشكل أساسي عبر التخليق الحيوي من متوسطات متقالبة. ويتضمن التخليق الحيوي مجموعة متتابعة من التفاعلات التي تختلف عن تفاعلات التخليق الحيوي للبورين وإن كانت تتضمن تفاعلات مماثلة بعد أن يتشكل النوكليوتيد الأحادي. وتعمل بعض مضاهئات البيريميدين كركائز لإنزيمات التخليق الحيوي لنوكليوتيدات البيريميدين، ومن ثم فهي تثبط هذه العملية. ويتضمن تنظيم التخليق الحيوي لنوكليوتيدات البيريميدين التحكم بكل من التعبير الجيني والفعالية الإنزيمية. إن تنسيق تنظيم التخليق الحيوي لنوكليوتيدات البورين والبيريميدين يضمن وجودها بمقادير متناسبة ملائمة للتخليق الحيوي للأحماض النووية والحاجات الأيضية الأخرى.

في حين تكون التفاعلات والمتوسطات الخاصة بالتخليق الحيوي للبورين والبيريميدين هي نفسها في الجراثيم والإنسان، إلا أن الإنزيمات التي تقوم بتحفيز هذه التفاعلات تكون مرتبة بشكل مختلف؛ ففي الجراثيم يقوم بتحفيز كل تفاعل بروتين مستقل، أما في الإنسان فتكون بعض إنزيمات التخليق الحيوي للبورين

والبيريميدين على شكل عديدات ببتيد عديدة الوظائف تقوم بتحفيز تفاعلات متجاورة. وتتضمن المزايا الواضحة لعديدات الببتيد متعددة الوظائف التعبير المتناسق لعدة فعاليات تحفيزية وإفراز نواتج من تفاعل إلى تفاعل آخر يليه في التسلسل دون الانفصال عن الإنزيم.

يقوم الإنسان بتقويض البورينات إلى الحمض الضعيف «حمض اليوريك» (pK_a = 5.8) الذي يوجد ـ حسب باهاء (pH) البول ـ إما بشكل الحمض الضعيف قليل الذوبان نسبياً (في الباهاء (pH) الحمضية) أو بشكله الملحي «يورات الصوديوم» الأكثر ذوبانية (في الباهاء (pH) القلوية). ويعد وجود يورات الصوديوم مشخصاً للنقرس (اضطراب أيضي في تقويض البورين). ومن بين الاضطرابات الأخرى لتقويض البورين نذكر متلازمة ليش ـ نيهان وداء فون جيركه وحالات نقص حمض اليوريك في الدم.

خلافاً لنواتج تقويض البورين غير الذوابة نسبياً ـ حمض اليوريك واليورات ـ فإن النواتج النهائية لتقويض البيريميدين (CO_2 و NH_3 وبيتا أمينو إيزوبوتيرات) شديدة الانحلال في الماء. أما اليوريدين الكاذب فيطرح دون أن يطرأ عليه أي تغيير. وبشكل عام، لا يترافق فرط إنتاج نواتج تقويض البيريميدين باضطرابات هامة سريرياً. ويستجيب مرضى بيلة حمض الأوروتيك لإعطاء نوكليوزيدات البيريميدين في الغذاء. كما أن بعض الأدوية يمكنها أن تحدث بيلة حمض الأوروتيك. ويمكن أن ينتج إطراح طلائع البيريميدين عن عوز ناقلة الكَرْباموِيل للأورنيثين (أحد إنزيمات دورة اليوريا) ذلك أن فسفات الكَرْباموِيل تصبح أكثر توافراً من أجل التخليق الحيوي للبيريميدين.

***References**

Benkovic SJ: The transformylase enzyme in de novo purine synthesis. *Trends Biochem Sci* 1984;9:320.

Cariello NF, Skopek TR: In vivo mutation at the human HPRT locus. *Trends Genet* 1993;9:322.

Curto R et al: Analysis of abnormalities in purine metabolism leading to gout and to neurological dysfunctions in man. *Biochem J* 1998;329:477.

Holmgren A: Thioredoxin. *Annu Rev Biochem* 1985;54:237.

Nyhan WL: The recognition of Lesch-Nyhan-syndrome as an inborn error of purine metabolism. *J Inherit Metab Dis* 1987;20:171.

Puig JG et al: Gout: New questions for an ancient disease. *Adv Exp Med Biol* 1998;431:1.

Schinke RT: Methotrexate resistance and gene amplification: Mechanisms and implications. *Cancer* 1986;57:1912.

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed. McGraw-Hill, 1995.

Seegmiller JE: Overview of the possible relation of defects in purine metabolism to immune deficiency. *Ann N Y Acad Sci* 1985;45:9.

TvrdikT et al: Molecular characterization of two deletion events involving alu-sequences, one novel base substitution and two tentative hotspot mutations in the hypoxanthine phosphorybosyltransferase (HPRT) gene in five patients with Lesch-Nyhan-syndrome. *Hum Genet* 1998;103:311.

Zalkin H, Dixon JE: De novo purine nucleotide synthesis. *Prog Nucleic Acid Res Biol* 1992;42:259.

الفصل السابع والثلاثون

بنية الأحماض النووية ووظيفتها

Nucleic Acid Structure and Function

مقدمة:

لعل من بين أهم إنجازات القرن العشرين العلمية هو اكتشاف أن المعلومات الوراثية مرمزة في جزيء مُبلمَر مكون فقط من أربعة أنواع من المواحيد. هذا الجزيء، الدنا (DNA)، هو الأساس الكيميائي للوراثة ويتعضى على شكل جينات (Genes) تشكل الوحدة الأساسية للمعلومات الوراثية (Genetic information)، وتتحكم بتخليق الأنماط المختلفة من الرنا (RNA) التي يدخل معظمها في عملية تخليق البروتينات. ويجب أن نعلم أن الجينات لا تعمل بشكل ذاتي مستقل، بل يخضع تنسخها (Replication) وعملها للتنظيم من قبل النواتج الجينية المختلفة، وغالباً ما يشترك في ذلك عناصر من مختلف سبل تنبيغ الإشارات (Signal transduction).

إن معرفة بنية الأحماض النووية ووظيفتها أساسي لفهمنا علم الوراثة (Genetics) والعديد من مفاهيم الفيزيولوجية المرضية للأمراض والأساس الوراثي (الجيني) للأمراض.

الأهمية الطبية البيولوجية:

يقبع الأساس الكيميائي للوراثة والأمراض الوراثية في بنية الدنا (DNA)، وقد

تم التعرف على السبيل الأساسي للمعلومات (يوجه الدنا (DNA) تخليق الرنا (RNA) (الذي يوجه بدوره تخليق البروتينات). وتستخدم هذه المعرفة الآن لتحديد فيزيولوجية الخلية السليمة والفيزيولوجية المرضية للأمراض على المستوى الجزيئي (Molecular level).

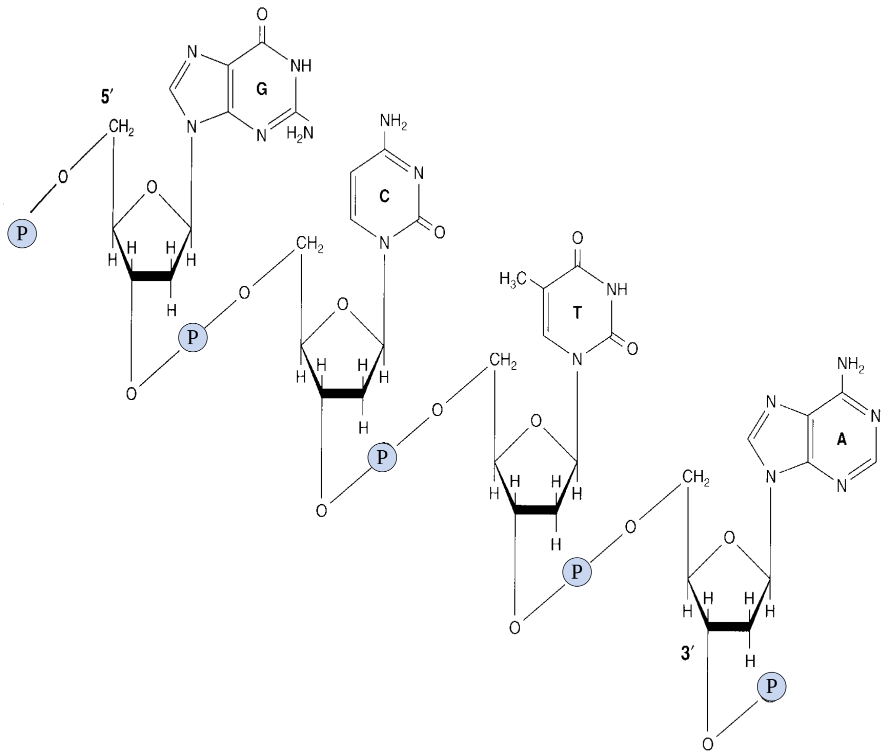
يحتوي الدنا (DNA) على المعلومات الوراثية:

تم إثبات أن الدنا (DNA) يحتوي على المعلومات الوراثية لأول مرة في العام 1944 من خلال سلسلة من التجارب التي قام بها كل من أڤري (Avery) وماك ليود (McLeod) وماك كارتي (McCarty). أظهر هؤلاء العلماء أنه يمكن للمحددات الوراثية لنمط محفظة (Capsule) نوع معين من المكورات الرئوية (Pneumococcus) أن تنتقل إلى نوع آخر منها عن طريق إدخال الدنا (DNA) المنقى من النوع الأول إلى الثاني. وقد أطلق هؤلاء العلماء على العامل (أظهر لاحقاً أنه الدنا (DNA)) المسؤول عن هذا التغير اسم «العامل المحول» (Transforming factor).

فيما بعد، أصبح هذا التداول الوراثي (Genetic manipulation) أمراً مألوفاً وعادياً، وتم حديثاً إجراء تجارب مشابهة استخدمت فيها الخميرة (Yeast) وخلايا الثدييات المزروعة والحشرات وأجنة الثدييات كمتلقيات للمعلومات الوراثية واستخدم الدنا (DNA) المنسل (Cloned) كمعط لها.

يحوي الدنا (DNA) أربعة نوكليوتيدات منزوعة الأكسجين:

لقد وصفت الطبيعة الكيميائية لمواحيد النوكليوتيدات منزوعة الأكسجين (ديوكسي) المشكلة للدنا (DNA) ـ ديوكسي الأدينيلات وديوكسي الجوانيلات وديوكسي السيتيديلات والثيميديلات ـ في الفصل 35. وتتصل وحدات بناء الدنا (DNA) هذه على شكل بلمري بواسطة الروابط الفُسفودَايسترية ´3، ´5 لتكون طاقاً (Srand) منفرداً كما هو مبين في (الشكل 37-1). ويكمن محتوى الدنا (DNA) من المعلومات (الراموز الوراثي (Genetic code)) في التسلسل الذي يجري به ترتيب هذه المواحيد (ديوكسي ريبونوكليوتيدات البورين والبيريميدين).



الشكل 37-1 : شدفة من طاق واحد لجزيء الدنا (DNA) ترتبط فيه أسس البورين والبيريميدين (الأدينين (A) والثيمين (T) والسيتوزين (C) والجوانين (G)) معاً بهيكل من الروابط الفُسفودَايسترية بين ثمالات 2´ ديوكسي الريبوزيل التي ترتبط مع نتروجين الأسس برابطة جليكوزيدية. لاحظ أن للهيكل قطبية (أي اتجاه ما) تُوَضَّح عادة بالتوضع بالاتجاه من 5´ إلى 3´.

ويتميز هذا البَلمَر، كما هو واضح في الشكل، بقطبيته (Polarity) حيث إن إحدى النهايتين تحتوي على ´5– هيدروكسيل أو فسفات طرفية، في حين تحتوي النهاية الثانية على ´3 – فسفات أو مجموعة هيدروكسيلية. وستتضح أهمية هذه القطبية لاحقاً. وبما أن المعلومات الوراثية تكمن في تسلسل المواحيد البنائية ضمن البَلمَر، لذا فمن الضروري وجود آلية لإعادة إنتاج أو تنسخ (Replicating) هذه

المعلومات بدرجة عالية من الدقّة (Fidelity). هذه الضرورة، بالإضافة إلى معطيات انعراج أشعة X لجزيء الدنا (DNA) وملاحظة العالم شارجاف (Chargaff) على أنه ضمن جزيء الدنا (DNA) يكون تركيز نوكليوتيدات ديوكسي الأدينوزين (A) مساوياً لتركيز نوكليوتيدات الثيميدين (T) (A=T)، وأن تركيز نوكليوتيدات ديوكسي الجوانوزين (G) مساوياً لتركيز نوكليوتيدات ديوكسي السيتيدين (C) (C=G) ، كل هذا قاد كلاً من واطسن (Watson) وكريك (Crick) وويلكنز (Wilkins) في أوائل الخمسينات من القرن العشرين إلى افتراض نموذج لجزيء الدنا (DNA) مضاعف الطاق (Double-stranded) يوضحه (الشكل 37-2).

وتقوم الروابط الهيدروجينية بين الأسس البورينية والبيريميدينية للجزيئات الخطية بربط طاقي هذا الجزيء مضاعف الطاق. ويكون التزاوج ما بين نوكليوتيدات البورين والبيريميدين على الطاقين المتعاكسين نوعياً جداً ويعتمد على تشكيل روابط هيدروجينية ما بين A و T وما بين Gو C (الشكل 37-3).

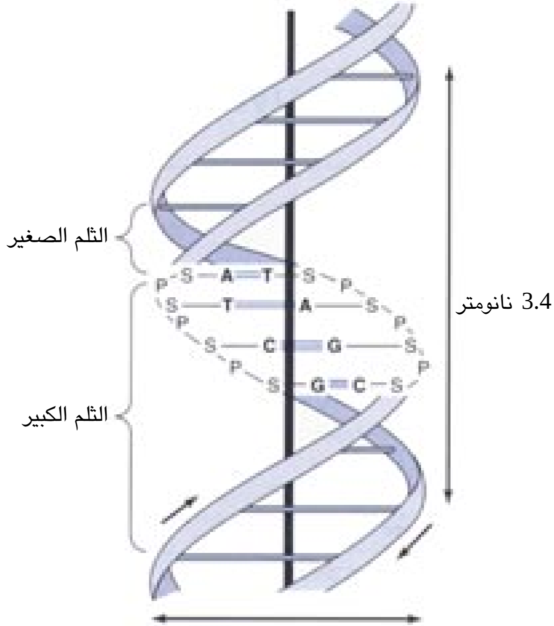
يوصف هذا الشكل الشائع للدنا (DNA) على أنه أيمني الاتجاه الأسس المكونة له تشكل حلزوناً يلتف باتجاه عقارب الساعة. وضمن الجزيء مضاعف الطاق، فإن العوامل التالية تسمح للأساس A أن يتزاوج فقط مع T، وتسمح للأساس G أن يتزاوج فقط مع C كما هو مبين (بالشكل 37-3):

1 – القيود المفروضة من قبل الدوران حول الرابطة الفُسفودَايسترية.

2 – الشكل الفراغي المفضل للرابطة الجليكوزيدية (المتعاكس (Anti)) (الشكل 35-8).

3 – الأشكال الصنوية (Tautomers) المهيمنة (الشكل 35-3) للأسس الأربعة (Aو G و Tو C).

يفسر هذا التقييد في التزاوج ما بين الأسس ملاحظة شارجاف بأنه ضمن جزيء الدنا (DNA) مضاعف الطاق يكون محتوى الجزيء من A معادلاً لمحتواه من T، وكذلك محتوى الجزيء من G يعادل محتواه من C.



الشكل 37-2 : التمثيل التخطيطي لنموذج واطسن – كريك للبنية الحلزونية المضاعفة للشكل B من الدنا (DNA). ويشير السهم الأفقي إلى عرض الحلزون (2.0نم)، ويشير السهم العمودي إلى المسافة المقطوعة خلال اللفة الكاملة للحلزون المضاعف (3.4 نم). وتحتوي كل لفة من لفات الشكل B من الدنا (DNA) على عشرة أزواج من الأسس. ويمثل القضيب العمودي المحور المركزي للحلزون المضاعف، أما الأسهم الصغيرة فتشير إلى قطبية الطاقين متعاكسي التوازي (A: أدينين، C: سيتوزين، G: جوانين، T: ثيمين، P: فسفات، S: سكر (ديوكسي ريبوز).

ويكون طاقا الجزيء الحلزوني المضاعف، والذي يملك كل منهما قطبية، متوازيين عكسياً (Antiparallel)، أي أن أحد الطاقين يسير بالاتجاه ´5، ´3، في حين يسير الآخر بالاتجاه ´5، ´3. ويمكن تشبيه ذلك بشارعين متوازيين يسيران معاً ويكون اتجاهُ السير في كل منهما بالاتجاه المعاكس للآخر.

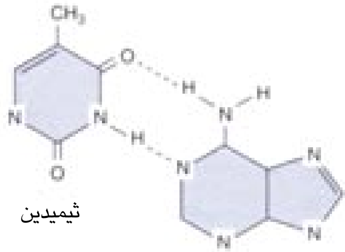
وفي جزيئات الدنا (DNA) مضاعفة الطاق، تقبع المعلومات الوراثية في تسلسل النوكليوتيدات في أحد الطاقين، الطاق المرصاف (Template strand)؛ وهو الطاق الذي ينسخ خلال تخليق الحمض النووي، ويدعى أحياناً الطاق غير المرمِّز (Noncoding strand). ويعد الطاقُ المعاكس الطاق المرمِّز (Coding strand)، لأنه يطابق الرنا (RNA) المنتسخ الذي يرمز للبروتين.

يلتف الطاقان، اللذان تكون فيهما الأسس المتعاكسة مرتبطة بالروابط الهيدروجينية، حول محور مركزي ليشكِّلا حلزوناً مضاعفاً (Double helix). ويوجد الدنا (DNA) المضاعف الطاق بستة أشكال على الأقل (يرمز لها بالأشكال من A إلى E والشكل Z)؛ ويوجد الشكل B تحت الظروف الفيزيولوجية (تركيز ملحي منخفض، ودرجة عالية من التميه (Hydration)). وتتضمن كل دورة للدنا (DNA) من الشكل B حول محور الجزيء عشرة أزواج من الأسس، والمسافة المقطوعة في الدورة الواحدة للشكل B من الدنا تساوي 3.4 نانومتر (نم)، أما عرض الحلزون المضاعف (قطر الحلزون) فيساوي 2 نانومتر.

وكما هو مبين في الشكل 37-3، يرتبط نوكليوتيد الديوكسي جوانوزين مع نوكليوتيد الديوكسي سيتيدين بثلاث روابط هيدروجينية، في حين يرتبط الزوج الآخر (أي زوج A - T) برابطتين هيدروجينيتين فقط؛ لذا فإن مناطق الدنا الغنية بالروابط G - C أكثر مقاومة، وبكثير، للتمسخ أو «الانصهار» (Melting) بكثير من المناطق الغنية بالروابط A-T.

يستخدم تمسيخ (أو انصهار) الدنا (DNA) لتحليل بنيته:

يمكن فصل البنية مضاعفة الطاق للدنا(DNA) إلى طاقين منفصلين (انصهار) في محلول ما بواسطة زيادة الحرارة أو بتخفيض تركيز الملح فيه. ولا تنفصل كدستا (Stacks) الأسس في الطاقين بعضها عن بعض فحسب، بل تفقد الأسس في الطاق نفسه تكدسها (Unstack) أيضاً، في حين تبقى مرتبطة ضمن البلمر بواسطة هيكل الفُسفودَايستر.





الشكل 37-3 : يتضمن تزاوج ديوكسي الأدينوزين والثيميدين تشكيل رابطتين هيدروجينيتين. وتتشكل ثلاث من هذه الروابط الهيدروجينية ما بين ديوكسي السيتيدين وديوكسي الجوانوزين. وتمثل الخطوطُ المتقطعة الروابطَ الهيدروجينية.

ويترافق تمسخ (Denaturation) الدنا (DNA) هذا مع زيادة في امتصاص الضوء من قبل أسس البورين والبيريميدين، الظاهرة التي تسمى فرط التلون المسبب بالتمسخ (Hyperchromicity of denaturation). ويكتسب جزيء الدنا (DNA) مضاعف الطاق خصائص العصا القاسية (Rigid rod) بسبب كل من تكدس الأسس والروابط الهيدروجينية ما بين الكدسات، ويشكل في المحلول مادة لزجة تفقد لزوجتها عند حدوث التمسخ.

ينفصل طاقا جزيء معين من الدنا (DNA) ضمن مجال معين من الحرارة؛ وتسمى النقطة عند منتصف هذا المجال بدرجة الانصهار (Melting point) أو T_m

التي تتأثر بكل من الأسس المركبة للدنا (DNA) وتركيز الملح في المحلول. ويحتاج انصهار الدنا (DNA) الغني بالأزواج G-C (التي ترتبط بثلاث روابط هيدروجينية) إلى درجة حرارة أعلى من تلك المطلوبة لانصهار الدنا (DNA) الغني بأزواج A-T (التي ترتبط باثنتين فقط من الروابط الهيدروجينية). كما أن زيادة قدرها عشرة أضعاف في تركيز الكاتيونات أحادية التكافؤ تؤدي إلى زيادة T_m بمقدار 16.6 درجة مئوية. ويعمل الفورماميد (Formamide)، المستخدم بشكل واسع في تجارب تأشيب الدنا (DNA)، على زعزعة استقرار الروابط الهيدروجينية ما بين الأسس، مؤدياً إلى إنقاص قيمة Tm. وهذا ما يسمح بفصل طيقان الدنا (DNA) أو الهجائن DNA-RNA عند درجات حرارة أقل بكثير، وبالحد من كسر الطيقان الذي يحدث في الحرارة المرتفعة.

توجد أتلام (Grooves) في جزيء الدنا (DNA):

يكشف الفحص الدقيق للنموذج المبين في (الشكل 37-2) وجود تلم كبير (Major groove) وتلم صغير (Minor) يلتفان على طول الجزيء بشكل موازٍ للهياكل الفُسفودَايسترية (Phosphodiester backbones). ويمكن للبروتينات أن تتآثر بشكل نوعي مع الذرات المكشوفة من النوكليوتيدات ضمن هذه الأتلام (بواسطة روابط هيدروجينية عادة)، ومن ثم يمكنها التعرف على تَسلسُلات نوكليوتيدية معينة وترتبط بها دون إخلال بازدواج الأسس في جزيء الدنا (DNA) مضاعف الحلزون؛ ومن خلال مثل هذه التآثرات، يمكن للبروتينات التنظيمية أن تتحكم بالتعبير الجيني لبعض الجينات النوعية (الفصلان 39 و41).

يوجد الدنا (DNA) بأشكال مسترخية وفائقة الالتفاف:

في بعض الكائنات الحية، كالجراثيم وعاثيات الجراثيم والعديد من ڤيروسات الحيوانات الحاوية على الدنا (DNA)، تلتحم نهايات جزيئات الدنا (DNA) لتشكل

دائرة مغلقة بدون نهايات طرفية؛ وهذا بالطبع لا يلغي قطبية الجزيء، إلا أنه يلغي كل مجموعات الهيدروكسيل والفسفوريل الحرة الموجودة في النهايتين 3´و 5´.

توجد هذه الحلقات المغلقة بشكل مسترخ (Relaxed) أو فائق الالتفاف (Supercoiled) ونحصل على الالتفاف الفائق عندما تنفتل (Twist) حلقة مغلقة حول محورها أو قطعة من الدنا (DNA) المضاعف الخطي بعد تثبيت نهاياته.

هذه العملية المتطلبة للطاقة تضع الجزيء تحت حالة من الضغط أو الإجهاد (Stress) أو الالتواء (Torsion) الذي تزداد حدته مع ازدياد عدد اللفات (Coils) الفائقة (تفحص ذلك مستخدماً حلقة مطاطية). وتتشكل اللفات الفائقة السلبية (Negative supercoils) عندما يلتف (أو ينفتل) الجزيء بعكس اتجاه عقارب الساعة (أي عكس اتجاه دوران الحلزون المضاعف الأيمني الموجود في النمط B من الدنا (DNA)، ويقال عن مثل هذا الدنا (DNA) بأنه تحت المفتول (Underwound)، وتخزن الطاقة اللازمة لتحقيق هذه الحالة بشكل ما في اللفات الفائقة. ولذلك يسهل الانتقال إلى حالة أخرى متطلبة للطاقة بوضع الجزيء في حالة تحت الفتل هذه؛ وأحد الأمثلة على هذا الانتقال هو فصل الطاقين، الشرط الأساسي لتنسخ الدنا (DNA replication) وانتساخه (Transcription). يقودنا هذا إلى حقيقة أن الدنا (DNA) فائق الالتفاف هو الشكل المفضل في الجمل الحيوية.

تدعى الإنزيمات التي تحفز التبدلات التوضعية (الطوبولوجية) في الدنا (DNA) بإنزيمات الطوبوإيزوميراز (مصاوغات التوضع) (Topoisomerase) التي يمكنها إرخاء جزيء الدنا (DNA) أو إدخال الالتفاف الفائق إليه. وأكثر هذه الإنزيمات خضوعاً للدراسة هو إنزيم الجيراز الجرثومية (Bacterial gyrase) الذي يحرض حدوث الالتفاف الفائق في الدنا (DNA) مُستخدماً الأتب (ATP) كمصدر للطاقة.

يؤمن الدنا (DNA) مرصافاً للتنسخ والانتساخ:

للمعلومات الوراثية المخزونة في تسلسل نوكليوتيدات الدنا (DNA) وظيفتان:

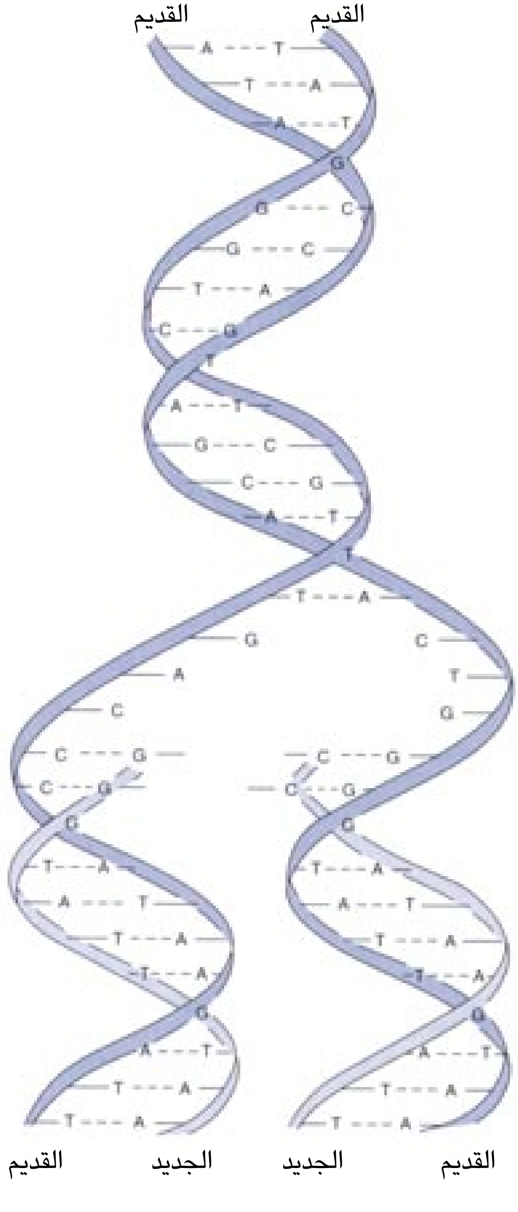
فهي مصدر المعلومات اللازمة لتخليق جميع جزيئات البروتين في الخلية والكائن الحي، وهي مصدر المعلومات التي تورث للخلايا الوليدة أو الذرية. وتتطلب كلتا هاتين الوظيفتين أن يقوم جزيء الدنا (DNA) بدور المرصاف لانتساخ المعلومات إلى الرنا (RNA) في الحالة الأولى ولتَنسُّخ المعلومات إلى جزيئات دنا (DNA) الخلايا «البنات» في الحالة الثانية.

إن وجود التتام (Complementarity) في نموذج واطسن ـ كريك للدنا (DNA) مضاعف الطاق يوحي بقوة أن تنسخ جزيء الدنا (DNA) يحدث بصورة نصف محافظة (Semiconservative). وهكذا، عندما ينفصل الطاقان المتتامان لجزيء الدنا (DNA) الأب مضاعف الطاق عن بعضهما في أثناء التنسخ، يقوم كل منهما بدور مرصاف يخلق عليه طاق جديد متمم له (الشكل 37-4). ويتوزع جزيئا الدنا (DNA) مضاعف الطاق المتشكلات حديثاً (والتي تحتوي كل منها على طاق واحد آت من جزيء الدنا (DNA) (الأب) بين الخليتين الوليدتين (الشكل 37-5). وتحتوي كل خلية وليدة على جزيئات الدنا (DNA) التي تحمل ذات المعلومات الوراثية التي يحملها الدنا (DNA) الأبوي؛ ومع ذلك فقد تمت المحافظة فقط على نصف دنا (DNA) الخلية الأبوية ضمن كل خلية وليدة.

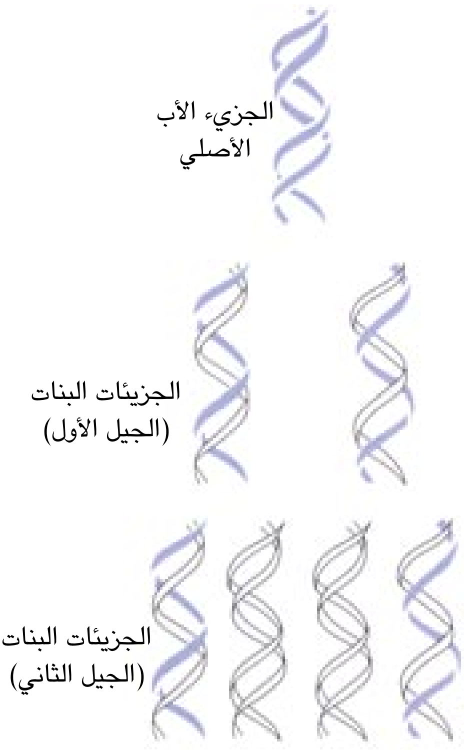
تختلف الطبيعة الكيميائية للرنا (RNA) عن تلك الخاصة بالدنا (DNA):

الحمض النووي الريبي (RNA) بلمر لريبونوكليوتيدات البورين والبيريميدين المرتبطة بروابط فُسفودَايسترية ´3، ´5 تماثل تلك الموجودة في الدنا (DNA) (الشكل 37-6). وبالرغم من مشاركته للدنا (DNA) في العديد من الخصائص، يتميز الرنا (RNA) بالفوارق النوعية التالية:

(1) في الرنا (RNA): السكر الذي ترتبط به الفسفات وأسس البورين والبيريميدين هو الريبوز بدلاً من ´2− ديوكسي الريبوز الخاص بالدنا (DNA).



الشكل 37-4 : بنية الطاق المضاعف للدنا (DNA)، ووظيفة كل طاق قديم (التظليل الغامق) كمرصاف يقوم عليه تخليق طاق متمم (التظليل الخفيف).



الشكل 37-5 : تنسخ الدنا (DNA) عملية نصف محافظة. ويعمل خلال دورة التنسخ كل من طاقي الدنا (DNA) كمرصاف لاصطناع طاق جديد متمم.

(2) تختلف المكونات البيريميدينية للرنا (RNA) عنها في الدنا (DNA)؛ فبالرغم من أن الرنا (RNA) يحتوي على ريبونوكليوتيدات الأدينين والجوانين والسيتوزين، إلا أنه لا يحتوي على الثيمين فيما عدا الحالة النادرة التي سيأتي ذكرها أدناه. وبدلاً من الثيمين فإن الرنا (RNA) يحتوي على ريبونوكليوتيد اليوراسيل.

(3) يوجد الرنا (RNA) بشكل طاق منفرد، في حين يوجد الدنا(DNA) كجزيء حلزوني مضاعف الطاق. ومع ذلك، وعند توفر تسلسل الأسس الملائم والمتمم وبقطبية متعاكسة، يصبح الطاق المفرد للرنا (RNA) قابلاً للانطواء على نفسه كملقط الشعر (Hairpin)، بذلك يكتسب خواص الطاق المضاعف (الشكل 37-7).

(4) بما أن جزيء الرنا (RNA) طاق مفرد متمم لأحد طاقي الجين فقط، لذا فإن

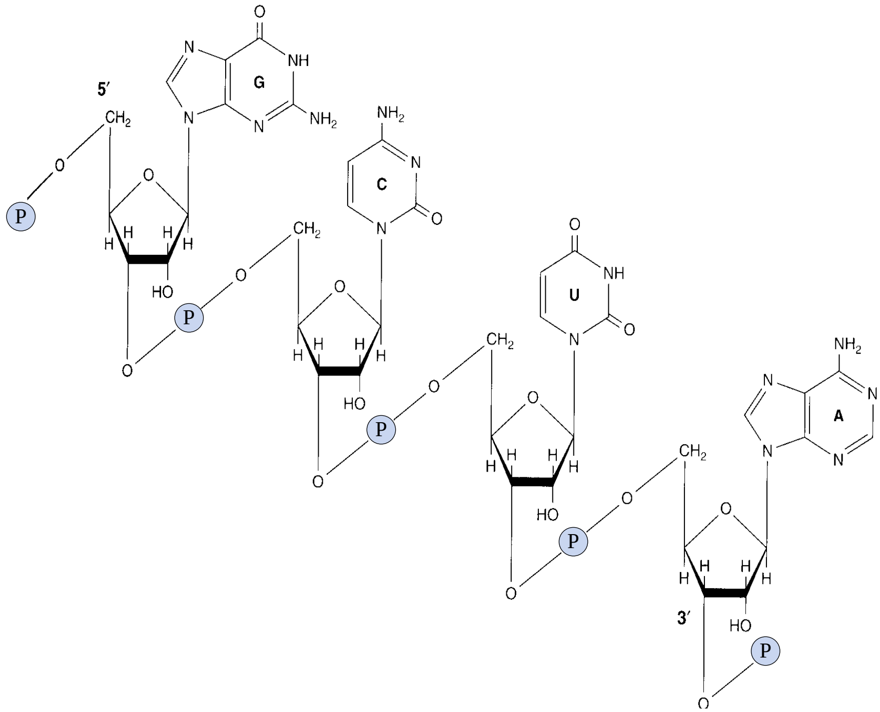
محتواه من الجوانين لا يساوي بالضرورة محتواه من السيتوزين. كما أن محتواه من الأدينين لا يساوي بالضرورة محتواه من اليوراسيل.

(5) يمكن حلمهة الرنا (RNA) بواسطة القلويات إلى المشتقات الحلقية (´3،´2 دَايستر) لنوكليوتيداته الأحادية؛ وهي مركبات لا يمكن تشكيلها من الدنا (DNA) بمعاملته بالمحاليل القلوية بسبب غياب زمرة الهيدروكسيل ´2 فيه. ولهذه العُطوبية القلوية (Alkali lability) للرنا (RNA) أهمية تشخيصية وتحليلية.

تكون المعلومات ضمن الطاق المنفرد للرنا (RNA) محتواة ضمن تسلسل («البنية الأولية») نوكليوتيدات البورين والبَيريميدين ضمن البَلمَر. هذا التسلسل متمم لتسلسل طاق المرصاف في الجين الذي انتسخ منه. وبسبب هذا التتام، يستطيع جزيء الرنا (RNA) أن يرتبط بشكل نوعي ـ حسب قوانين تزاوج الأسس ـ بمرصافه في الدنا (DNA) ولا يرتبط (يتهجن (Hybridize)) مع الطاق الآخر (المرمز) من الجين القادم منه. ويكون تسلسل نوكليوتيدات جزيء الرنا (RNA) هو تسلسلها نفسه في الطاق المرمز من الجين باستثناء استبدال T بـ U (الشكل 8-37).

تشترك جميع أنواع الرنا (RNA) العديدة تقريباً في بعض مفاصل تخليق البروتينات:

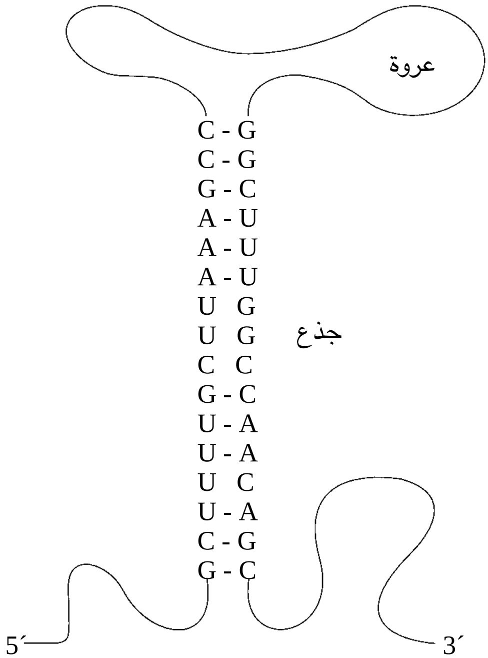
يطلق على جزيئات الرنا (RNA) الموجودة في الهيولى حيث تقوم بدور مراصيف لتخليق البروتين (أي تلك التي تنقل المعلومات الوراثية من الدنا (DNA) إلى آلة تخليق البروتين) تسمية الرنا (RNA) المرسال (Messenger RNAs) ويرمز لها بالرمز mRNAs. وللعديد من جزيئات الرنا (RNA) الهيولية الأخرى [الرنا (RNA)] الريباسي (Ribosomal RNA) أو [rRNA] أدوار بنيوية حيث تساهم في تشكيل الريباسات (Ribosomes) (العضيات المخلقة للبروتين). أما البعض الآخر [الرنا (RNA)] النقال (Transfer RNA) أو [tRNA] فيقوم بدور جزيئات ملئمة (Adapter) لترجمة معلومات الرنا (RNA) إلى تسلسلات نوعية من الأحماض الأمينية المبلمرة.



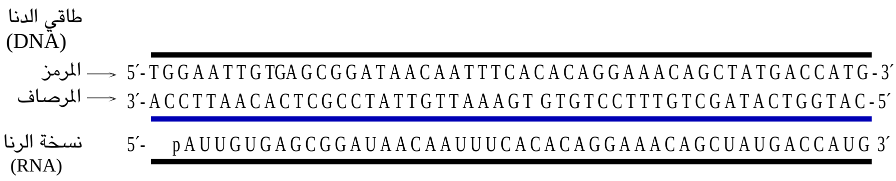
الشكل 37-6 : شدفة من جزيء الرنا (RNA) ترتبط فيه أسس البورين والبيريميدين (الأدينين (A) واليوراسيل (U) والسيتوزين (C) والجوانين (G)) معاً بهيكل من الروابط الفُسفودَايسترية بين ثمالات الريبوزيل التي ترتبط مع نتروجين الأسس برابطة جليكوزيدية. لاحظ أن للبلمَر قطبية توضحها مجموعات الفسفات الموسومة 5´و 3´.

تمتلك بعض جزيئات الرنا (RNA) فعالية تحفيزية داخلية المنشأ (Intrinsic)؛ وغالباً ما يشمل نشاط هذه الإنزيمات الريبية أو الريبوزيمات (Ribozymes) على شطر حمض نووي؛ وكمثال على ذلك نذكر الدور الذي يقوم به الرنا (RNA) في تحفيز معالجة النسخة الأولية وتحويلها إلى رنا (RNA) مرسال ناضج.

تتدرك معظم جزيئات الرنا (RNA) المخلقة من مراصيف الدنا (DNA) في خلايا حقيقيات النوى، بما فيها خلايا الثدييات، ضمن النواة ولا يمكنها أبداً أن تقوم بأي دور بنائي أو معلوماتي ضمن الهيولى الخلوية.



الشكل 37-7 : تمثيل تخطيطي للبنية الثانوية لجزيء وحيد الطاق من الرنا (RNA) تشكلت فيها البنية عروة – جذع أو «ملقط الشعر» (Hairpin) المعتمدة على ازدواج الأسس داخل الجزيء .



الشكل 37-8 : العلاقة بين تسلسلي نسخة الرنا (RNA) والجين المنتسج منه. يظهر فيه طاقا المِرصاف والمرمز مع قطبيتهما. أما الرنا (RNA) المنتسخ ذو القطبية ´3، ´5 فهو متمم لطاق المرصاف ذي القطبية ´5، ´3. لاحظ أن التسلسل في نسخة الرنا (RNA) وقطبيته هي تلك الخاصة بالطاق المرمز نفسها فيما عدا استبدال T في الجين بـ U في الرنا (RNA).

يوجد في نوى خلايا الإنسان جزيئات صغيرة من الرنا (RNA) تسمى جزيئات الرنا (RNA) النووية الصغيرة (Small nuclear RNA "snRNA")؛ وهي لا تشترك بشكل مباشر في تخليق البروتينات، وإنما يمكن أن يكون لها أدوار في معالجة (Processing) الرنا (RNA) وفي هندسة الخلية. ويتراوح حجم هذه الجزيئات الصغيرة نسبياً بين 95 و 300 نوكليوتيد (الجدول 37-1).

الاسم	الطول (نوكليوتيدات)	جزيء/ خلية	المتوضع
U1	165	1 × 10[6]	جبلة النواة [1] / hnRNA[2]
U2	188	5 × 10[5]	جبلة النواة
U3	216	3 × 10[5]	النويات
U4	139	1 × 10[5]	جبلة النواة
U5	118	2 × 10[5]	جبلة النواة
U6	106	3 × 10[5]	الحبيبات قبل الكروماتينية
4.5S	91-95	3 × 10[5]	النواة والهيولي
7S	280	5 × 10[5]	النواة والهيولي
7-2	290	1 × 10[5]	النواة والهيولي
7-3	300	2 × 10[5]	النواة

الجدول 37-1 : بعض أنواع الرنا (RNA) الصغيرة المستقرة الموجودة في خلايا الثدييات.

1- nucleoplasm؛ 2- جزيئات الرنا النووية متغايرة المنشأ.

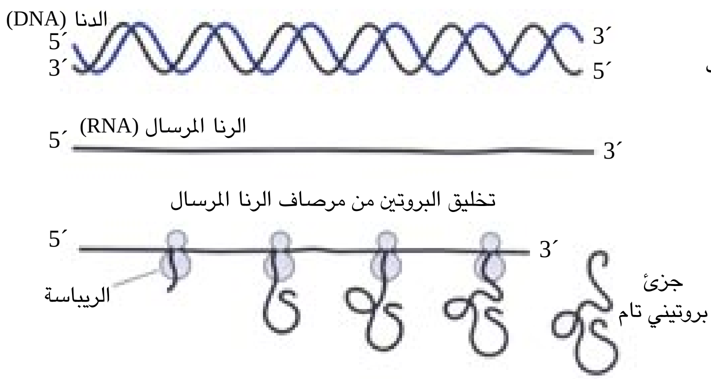
إن المادة الوراثية لبعض فيروسات الحيوانات والنباتات هي الرنا (RNA) بدلاً من الدنا (DNA). وعلى الرغم من أن بعض تلك الفيروسات المحتوية على الرنا (RNA) لا تنتسخ معلوماتها إلى جزيء دنا (DNA) بتاتاً، إلا أن هناك الكثير من فيروسات الرنا (RNA) الحيوانية ـ وبشكل خاص الفيروسات القهقرية (Retroviruses) كفيروس العوز المناعي البشري (HIV) أو الإيدز (ADIS) (التي يجري انتساخها بواسطة بوليميراز الدنا (DNA)) المعتمد على الرنا (RNA)

(RNA-dependent DNA Polymerase) التي يطلق عليها اسم المنتسخة العكسية (Reverse transcriptase). هذا يؤدي إلى إنتاج نسخة دنا (DNA) مضاعفة الطاق من مجينها الرنوي (RNA Genome). وفي كثير من الحالات، يندخل الدنا (DNA) مضاعف الطاق الناتج ضمن المجين البشري حيث يقوم بدور مرصاف من أجل التعبير الجيني، والذي يمكن أن تنسخ منه مجينات رنا (RNA) ڤيروسية جديدة.

يتعضى الرنا (RNA) بعدة بنيات فريدة:

يوجد في جميع الكائنات الحية طليعية النوى وحقيقية النوى ثلاثة أنواع أساسية من جزيئات الرنا (RNA): الرنا المرسال (mRNA) والرنا النقال (tRNA) والرنا الريباسي (rRNA)، يختلف كل منها عن الأخرى في حجمه ووظيفته واستقراره بشكل عام.

(1) الرنا (RNA) المرسال: إن هذا النوع هو الأكثر تنوعاً من حيث الحجم والثبات. ويقوم جميع أفراد هذا الصنف بدور مراسيل تنقل المعلومات المتضمنة في الجين إلى الآلة المخلقة للبروتين، حيث يعمل كل منها كمرصاف تتبلمر عليه تسلسلات محددة من الأحماض الأمينية لتشكيل جزيء بروتيني معين يكون هو الناتج النهائي للجين (الشكل 37-9).



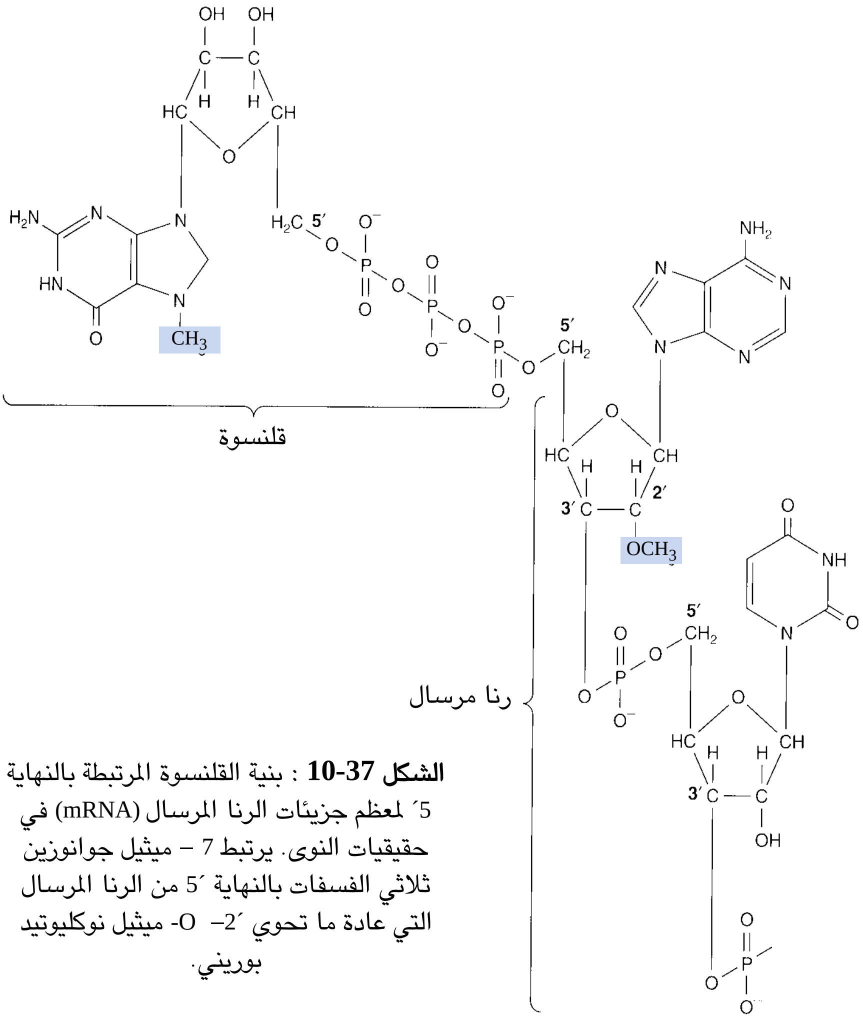
الشكل 37-9 : التعبير عن المعلومات الوراثية في الدنا (DNA) على شكل رنا مرسال (mRNA) يترجم لاحقاً بواسطة الريباسات إلى جزيء بروتيني.

تتصف جزيئات الرنا (RNA) المرسال، لا سيما في حقيقيات النوى، ببعض الخصائص الكيميائية الفريدة؛ فتمتلك النهاية ´5 من الرنا المرسال (mRNA) «قلنسوة» (Cap) قوامها المركب 7 – ميثيل جوانوزين ثلاثي الفسفات الذي يرتبط عبر مجموعات الفسفات الثلاثة بالمجموعة الهيدروكسيلية ´5 للريبونوكليوزيد المجاور له والمُمَثيَلة مجموعته الهيدروكسيلية رقم ´5 (الشكل 37-10). وكثيراً ما تحتوي جزيئات الرنا (RNA) على 6– ميثيل أدينيلات وعلى نوكليوتيدات أخرى تكون فيها مجموعة الأوكسي رقم ´2 من الريبوز مُمَثْيَلَة. وتشترك القلنسوة في عملية تعرف آلة الترجمة على الرنا المرسال (mRNA)، كما يعتقد أنها تساعد في الحفاظ على ثباتية واستقرار الرنا المرسال (mRNA) بحمايته من هجوم إنزيمات ´5 – نوكلياز الخارجية (´Exonuclease-5) وتبدأ الآلات المخلقة للبروتين بترجمة الرنا المرسال (mRNA) إلى بروتينات من النهاية ´5 ذات القلنسوة.

أما النهاية الأخرى لمعظم جزيئات mRNA، أي النهاية ´3 – الهيدوركسيلية، فترتبط ببِلمَر من ثمالات الأدينيلات بطول 20-250 نوكليوتيد. إن الوظيفة النوعية لهذا «الذيل» عديد الأدينيلات (Poly(A) “tail”) غير مفهومة تماماً، ولكن يبدو أنها تحافظ على استقرار جزيئات معينة من الرنا المرسال mRNA داخل الخلية عن طريق منع هجوم إنزيمات ´3 – نوكلياز الخارجية. ولا تحتوي بعض جزيئات الرنا المرسال (mRNA)، بما فيها تلك الخاصة بالهيستونات (Histones)، على الذيل عديد (الأدينيلات). وبما أنه يمكن لأدينيلات الذيل أن تتزاوج مع أسس بلمر عديد الديوكسي ثيميدين مرتبط بركيزة صلبة كالسيلولوز، لذا فمن الممكن استخدامه لفصل الرنا المرسال (mRNA) عن الأنواع الأخرى من الرنا (RNA) بما فيها جزيئات الرنا المرسال (mRNA) التي لا تحتوي على ذلك الذيل.

في خلايا الثدييات، بما فيها الإنسان، ليست جزيئات الرنا المرسال (mRNA) الموجودة في الهيولى الناتج المخلق مباشرة من مرصاف الدنا (DNA)، بل يجب أن تتشكل بعد معالجة الجزيء الطليعة أو السلف (Precursor) قبل أن تدخل الهيولى. لذا يشكل الناتج المباشر لانتساخ الجينات في نوى الثدييات نوعاً رابعاً من جزيئات الرنا (RNA) وتكون جزيئات الرنا (RNA) النووية متغايرة المنشأ (hnRNA) هذه شديدة التنوع بالحجم وكبيرة جداً حيث يمكن أن يصل وزنها الجزيئي إلى ما يزيد

على 10^7، في حين أن الوزن الجزيئي لجزيئات الرنا المرسال (mRNA) لا يزيد بشكل عام على 2×10^6. وتُعالَج جزيئات hnRNA (كما هو مشروح في الفصل 34) لتشكيل جزيئات الرنا المرسال (mRNA) التي تدخل بعد ذلك الهيولى لتقوم بدور المرصاف من أجل تخليق البروتين.



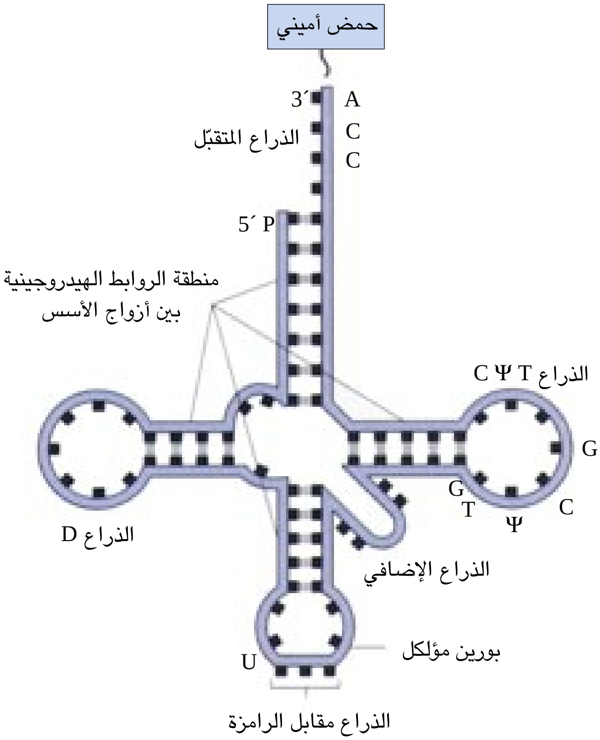
الشكل 10-37 : بنية القلنسوة المرتبطة بالنهاية 5´ لمعظم جزيئات الرنا المرسال (mRNA) في حقيقيات النوى. يرتبط 7 – ميثيل جوانوزين ثلاثي الفسفات بالنهاية 5´ من الرنا المرسال التي عادة ما تحوي 2´– O- ميثيل نوكليوتيد بوريني.

(2) الرنا النقال (Transfer RNA;tRNA): يتراوح طول جزيئات الرنا النقال بين 74 و 95 نوكليوتيد. وهي تتشكل أيضاً من معالجة الجزيء الطليعي داخل النواة (الفصل 39). وتقوم جزيئات (tRNA) بدور الملئمات (Adapters) خلال عملية ترجمة المعلومات المتضمنة في الرنا المرسال (mRNA) إلى أحماض أمينية. وهناك على الأقل 20 نوعاً من tRNA في كل خلية، واحد على الأقل (وغالباً أكثر) لكل من الأحماض الأمينية العشرين اللازمة لتخليق البروتينات. وعلى الرغم من أن كل جزيء من جزيئات الرنا النّقال (tRNA) يختلف عن غيره من حيث تسلسل النوكليوتيدات، إلا أنها جميعاً تشترك بالكثير من الخصائص. وتسمح البنية الأولية ـ أي تسلسل النوكليوتيدات ـ لجميع جزيئات tRNA بحدوث تطو شامل وتتام بين أجزاء الطاق (Intrastrand complementarity) يؤديان إلى تشكيل بنية ثانوية تبدو شبيهة بورقة البرسيم أو «ورقة كبش القرنفل» (Cloverleaf) (الشكل 37-11).

تحتوي جميع جزيئات الرنا النقال (tRNA) على أربعة أذرع رئيسية؛ يتألف الذراع المتقبل (Acceptor arm) من جذع (Stem) من الأسس المتزاوجة ينتهي بالتسلسل ´5 – 3 - A - C - C´. وترتبط المجموعة الكربوكسيلية للأحماض الأمينية بمجموعة الهيدروكسيل ´3 من ثمالة الأدينوزين الأخيرة عن طريق رابطة إسترية. وتحتوي الأذرع الأخرى على جذوع من الأسس المتزاوجة وعرى (Loops) من الأسس غير المتزاوجة (الشكل 37-7). وتقوم ذراع مقابلة الرمزة (Anticodon arm) عند نهاية الجذع المتزاوج الأسس بالتعرف على النوكليوتيدات الثلاثية أو الرامزة (Codon) من مرصاف الرنا المرسال (mRNA) (كما هو مشروح في الفصل 40)؛ حيث يكون لديها تسلسل نوكليوتيدي متمم للرامزة يكون مسؤولاً عن نوعية الرنا النقال (tRNA).

سميت الذراع الثالثة بالذراع D نسبة إلى وجود أساس ثنائي هيدرو اليوريدين (Dihydrouridine) فيها، وكذلك سميت الذراع T Ψ C (TΨC arm) نسبة إلى وجود تسلسل الثيميدين (T) واليوريدين الكاذب (Pseudouridine "Ψ") والسيتيدين (C). وأما الذراع الإضافية (Extra arm) فهي الصفة الأكثر تنوعاً في جزيئات الرنا

النقـال (tRNA)، وهـي المسـؤولة عن اختـلاف أطوال هذه الأخـيرة، وتشـكل أسـاسـاً لتصنيفـها. يكون للصف 1 من جزيئات الرنا النّقّال (tRNA) (ويشكل حوالي 75 ٪ منها) ذراع إضـافيـة بطول 3-5 أزواج من الأسس؛ أمـا الصف 2 منهـا فلجـزيئـاته ذراع إضـافية بطول 12-21 زوجاً من الأسس، وكثيراً ما تكون على شكل بنية ذات جذع وعروة.



الشكل 37-11 : البنية النموذجية لأمينواسيل الرنا النقال التي يرتبط فيها الحمض الأميني بالنهاية 3َ C C A. ويبين الشكل الذراع مقابل الرامزة والذراع T Ψ C وذراع ثنائي هيدرو اليوراسيل (D)، كما يبين مواضع الروابط الهيدروجينية داخل الجزيء فيما بين أزواج الأسس.

تتم المحافظة على البنية الثانوية لجزيئات الرنا النقال (tRNA) عن طريق ازدواج الأسس في هذه الأذرع. ويتكون الذراع المتقبل من 7 أزواج من الأسس، أما الذراع T Ψ C والذراع مقابل الرامزة فيتكونان من 5 أزواج، في حين تحتوي الذراع D على 3 (أو 4) أزواج.

بالرغم من أن أشكال الرنا النقال (tRNAs) ثابتة تماماً في طليعيات النوى، فهي، ولسبب غير معروف، أقل ثباتاً في حقيقيات النوى. وعلى العكس من ذلك فإن الرنا المرسال (mRNA) غير ثابت في طليعيات النوى وثابت عموماً في حقيقيات النوى.

(3) الرنا الريباسي (Ribosomal RNA "rRNA"): الريباسة أو الريبوسوم (Ribosome) هي بنية نوكليوبروتينية توجد في الهيولى وتعمل كمصنع يتم فيه تخليق البروتينات من مراصيف الرنا المرسال (mRNA). ويجري على الريباسة تآثر بين جزيئات الرنا المرسال (mRNA) والنقال (tRNA) لترجمة المعلومات المنتسخة من الجين إلى جزيء بروتيني محدد. وخلال التخليق البروتيني النشيط، يرتبط عدد من الريباسات بجزيء رنا مرسال واحد في تجميع (Assembly) يدعى عديد الريباسات (Polysome).

ويبين (الجدول 37-2) مكونات الريباسة في الثدييات، والتي يبلغ وزنها الجزيئي حوالي 4.2×10^6 وسرعة تثفلها 80 س (وحدة سفيدبرج (Svedberg)) وتحتوي ريباسات الثدييات على وحدتي نوكليوبروتين أساسيتين، وحدة كبرى وزنها الجزيئي 1.4×10^6 (40 س) ووحدة أصغر وزنها الجزيئي 4.1×10^6 (40 س). وتحتوي الوحدة 60 س على رنا ريباسي (rRNA) سرعة تثفله 5 س وآخر 5.8 س، وثالث سرعة تثفله 28 س؛ كما أنها تضم أكثر من 50 عديد ببتيد نوعياً. وأما الوحدة 40 س فهي أصغر؛ وتضم رنا ريباسي وحيداً سرعة تثفله 18 س (18S rRNA) ونحو 30 سلسلة عديدة الببتيد. وتشتق جميع جزيئات الرنا الريباسية، فيما عدا 5S rRNA (سرعة تثفله 5)، من معالجة طليعة وحيدة لجزيء رنا سرعة تثفله 45 س في النوية، ويرمز له بالاختصار 45S RNA (الفصل 39). ويبدو أن 5S rRNA تملك طليعة خاصة بها تنتسخ بشكل مستقل.

تضم جزيئات الرنا الريباسية (rRNA) المثيَلة إلى بروتينات ريباسية نوعية في

النّوية. وفي الهيولى، تبقى الريباسات ثابتة وقادرة على القيام بعدة حلقات من الترجمة. وفي واقع الأمر، ما تزال أدوار جزيئات الرنا الريباسية (tRNA) في الجسيم الريباسي غير مفهومة تماماً، إلا أنها ضرورية من أجل تكوين الريباسات، ويبدو أنها تقوم بدور أساسي في ارتباط الرنا المرسال (mRNA) بالريباسات وترجمته، كما تقترح الدراسات الحديثة بأن أحدها يقوم بفعالية نقل الببتيديل (Peptidyl transferase)، وهو بذلك عبارة عن إنزيم ريبي (ريبوزيم).

المكون	الكتلة (الوزن الجزيئي)	البروتين		الرنا (RNA)		
		العدد	الكتلة	المقاس	الكتلة	الأسس
الوحيدة 40 س[2]	1.4×10^6	نحو 35	7×10^5	18 س	7×10^5	1900
الوحيدة 60 س[2]	2.8×10^6	نحو 50	1×10^6	5 س	35000	120
				5.8 س	45000	160
				28 س	1.6×10^6	4700

الجدول 37-2 : مكونات الريباسات في الثدييات(1) .

(1) تعرف الوحيدات الريباسية حسب سرعة تثفلها بوحدات سفيدبيرج (س) (40 س أو 60 س). ويوضح هذا الجدولُ الكتلة الإجمالية (الوزن الجزيئي (MW)) لكل منها؛ وقد أدرجنا أيضاً عدد البروتينات الخاصة بكل وحيدة وكتلتها الإجمالية ومكونات كل وحيدة من الرنا (rRNA) مع حجومها (بوحدات سفيدبيرج) وكُتلِها وعدد أسسها.

(4) جزيئات الرنا (RNA) الصغيرة الثابتة (Small stable RNA): يوجد في خلايا حقيقيات النوى عدد كبير من أنواع الرنا (RNA) المتميزة التي تتصف بأنها مصونة بدرجة عالية وصغيرة ومستقرة، وغالبيتها موجودة بشكل ريبونوكليوبروتينات تتوضع في النواة أو الهيولى أو كليهما. ويتراوح حجمها ما بين 30 و 90 نوكليوتيداً، وتوجد منها نحو 100,000 إلى 1,000,000 نسخة في كل خلية.

تشترك جزيئات الرنا النووي الصغير (Small nuclear RNAs “snRNAs”) بشكل واضح في معالجة الرنا المرسال (mRNA) وفي تنظيم الجينات. ومن بين

الجزيئات العديدة من الـ snRNAs، يشترك كل من U_1 و U_2 و U_4 و U_5 و U_6 في عمليات نزع الإنترون (Intron) من جزيئات الرنا النووية متغايرة المنشأ (hnRNAs) وفي معالجتها لتعطي الرنا المرسال (mRNA) (الفصل 39). وقد يكون الرنا النووي الصغير U_7 (U_7 snRNA) مُشتركاً في إنتاج النهايات 3´ الصحيحة للرنا المرسال (mRNA) للهيستونات (التي لا تحتوي على الذيل عديد الأدينيلات). كما أن النوعين U_4 و U_6 قد يكونان مطلوبين لمعالجة الذيل عديد الأدينيلات.

تهضم نوكليوزات نوعية الأحماض النووية:

تعرف الإنسان على الإنزيمات القادرة على تقويض الأحماض النووية منذ سنوات عديدة، وهي تصنف بعدة طرق. فتلك الإنزيمات النوعية تجاه الحمض النووي الريبي منزوع الأكسجين (الديوكسي) تدعى إنزيمات الديوكسي ريبونوكلياز (Deoxyribonucleases)، وتلك التي تحلمه بشكل خاص الأحماض النووية الريبية تدعى إنزيمات الريبونوكلياز (Ribonucleases). وتوجد ضمن كلتا هاتين المجموعتين إنزيمات قادرة على شطر الروابط الفُسفودَايسترية الداخلية لإنتاج النهايات 3´ – هيدروكسيل و 5´ – فسفوريل أو النهايات 5´ – هيدروكسيل و 3´– فسفوريل. تدعى هذه الإنزيمات باسم إنزيمات النوكلياز الداخلية (Endonucleases). ويكون بعضها قادراً على حلمهة كلا طاقي الجزيء مضاعف الطاق، في حين لا يستطيع بعضها الآخر إلا شطر الطيقان المفردة للأحماض النووية. ويمكن أن تحلمه بعض إنزيمات النوكلياز الطيقان المفردة غير المتزاوجة فقط؛ في حين تستطيع أخرى حلمهة الطيقان المفردة المساهمة في تشكيل الجزيء مضاعف الطاق. كما توجد صفوف من إنزيمات النوكلياز الداخلية تتعرف على تسلسلات نوعية في الدنا (DNA) معظمها من نوكليازات الاقتطاع الداخلية (Restriction endonucleases)، والتي أصبحت في السنوات الأخيرة أدوات مهمة في علم الوراثة الجزيئي والعلوم الطبية.

ويدرج (الجدول 42-2) قائمة ببعض إنزيمات نوكلياز الاقتطاع الداخلية المعروفة حالياً.

تكون بعض إنزيمات النوكلياز قادرة على حلمهة النوكليوتيد فقط عندما يوجد عند نهاية الجزيء، وتدعى هذه باسم إنزيمات النوكلياز الخارجية (Exonucleases). وتعمل إنزيمات النوكلياز الخارجية في اتجاه واحد (5´ ← 3´ أو 3´ ← 5´) فقط. وتكون النوكلياز الخارجية 3´ ← 5´ في البكتريا جزءاً صميمياً من آلات تنسخ الدنا (DNA) حيث تفيد في عملية تصحيح النوكليوتيد منزوع الأكسجين (ديوكسي) المضاف حديثاً اعتماداً على قوانين ازدواج الأسس.

الخلاصة:

إن الأحماض النووية، الدنا (DNA) والرنا (RNA) ، جزيئات بلمرية. ويتألف الدنا (DNA) من 4 أسس هي A و G و C و T، ترتبط خطياً بواسطة الروابط الفُسفودَايسترية ما بين الموضعين 3´و 5´ من جزيئات الريبوز منزوع الأكسجين المتجاورة. ويتعضى الدنا (DNA) في طاقين من خلال تزاوج الأساس A مع Tو G مع C في الطيقان المتتامة التي تشكل حلزوناً مضاعفاً حول محور مركزي. وتترتب أزواج أسس دنا (DNA) الإنسان، التي يبلغ عددها 3×10^9، في المتمم الفرداني (Haploid complement) لما يبلغ عدده 23 كروموسوماً. ويحدد التسلسل الدقيق لهذه النوكليوتيدات، البالغ عددها 3 بليون، فردانية كل شخص. وأحد وظائف الدنا (DNA) هي تأمين مرصاف لعملية التَّنَسُّخ، ومن ثم المحافظة على النمط الجيني (Genotype)؛ أما وظيفته الأخرى فهي تأمين مرصاف من أجل انتساخ الجينات، البالغ عددها نحو 10000، التي ترمز لمختلف جزيئات الرنا (RNA) المتنوعة.

على العكس من الدنا (DNA)، فإن الرنا (RNA) يوجد بعدة بنيات مختلفة وحيدة الطّاق يشترك معظمها في تخليق البروتينات. ويتألف التسلسل الخطي للنوكليوتيدات في الرنا (RNA) من A وG و C و U، ويكون الجزيء السكري هو الريبوز. وتضم الأشكال الرئيسية للرنا (RNA) كلاً من الرنا المرسال (mRNA) والرنا الريباسي (rRNA) والرنا النقال (tRNA)، ويختلف طول هذه الأنماط المختلفة من الرنا (RNA) من الرنا النقال (tRNA)، الذي يتألف من 75 نوكليوتيداً، وحتى الرنا المرسال (mRNA)، الذي يمكن أن يتألف من عدة آلاف من النوكليوتيدات.

وسيتم عرض وظائف كل من هذه الأنواع من الرنا (RNA) في تخليق البروتينات في فصول لاحقة.

***References:**

Green R, Noller HF: Ribosomes and translation. *Annu Rev Biochem* 1997;66:689.

Guthrie C, Patterson B: Spliceosomal snRNAs. *Annu Rev Genet* 1988;22:387.

Hunt T: *DNA Makes RNA Makes Protein*. Elsevier, 1983.

Watson JD, Crick FHC: Molecular structure of nucleic acids. *Nature* 1953;171:737.

Watson JD: *The Double Helix*. Atheneum, 1968.

الفصل الثامن والثلاثون

تعضي الدنا وتنسخه وتصليحه

DNA Organization, Replication, and Repair

مقدمة:

في حين لا يرتبط دنا (DNA) طليعيات النوى بالبروتينات، باستثناء تلك التي تساهم في تَنسخه (Replication) وانتساخه (Transcription)، يكون معظمه في حقيقيَّات النوى مغطًّى بأنواع مختلفة من البروتينات. وتشكل هذه البروتينات مع الدنا (DNA) بنية معقدة تُدعى الكروماتين (Chromatin) تسمح لجزيئات الدنا (DNA) أن تأخذ هيئات عديدة، كما تسمح بأنماط من المراقبة أو التحكم خاصة بحقيقيات النوى.

يمكن للمعلومات الوراثية المحمولة في دنا (DNA) الكروموسوم (Chromosome) أن تنتقل كما هي بواسطة التَّنسُّخ الدقيق، وقد تتغير بعدة طرق منها التعابر (Crossing over) والتأشب (Recombination) وتغيير الموضع أو المُناقلة (Transposition) والانقلاب الجيني أو التطافر (Conversion)، وهي آليات تسمح بتلاؤم الكائن الحي وتنوعه، إلا أنها قد تؤدي أيضاً إلى حدوث الأمراض.

تتبع عملية تَنَسُّخ الدنا (DNA)، وهي عملية شديدة التعقيد ومُنظَّمة بدقة، القطبية ´5 إلى ´3 النموذجية والمُتبعة أيضاً خلال تخليق كل من الرنا (RNA) والبروتين المشروحة في فصول أخرى. ويبدأ تنسخ الدنا (DNA) في كروموسومي خلايا حقيقيات النوى من مواضع متعددة، ويتقدم في كلا الاتجاهين بآن واحد. ويتطلَّب

تخليق الدنا (DNA) وتصليحه (Repair) إنزيمات عديدة. وكلاهما تتبعان قواعد واطسن وكريك الخاصّة بازدواج الأسس.

الأهمية الطبية البيولوجية:

يعود حدوث الطفرات (Mutations) إلى تبدُّل يصيب متوالية الأسس في الدنا (DNA) يمكن أن ينجم عن خطأ في تَّنَسُّخ الدنا (DNA) أو حركته أو تصليحه، وتحدث بتواتر قدره مرة تقريباً خلال كل مليون انقسام خلوي. ويمكن أن تؤدي الطفرات الحاصلة في المناطق المُرمِّزة أو التنظيمية من الدنا (DNA) إلى الحصول على ناتج جيني شاذ (بروتين غير طبيعي). ويمكن لأيَّة طفرة تحدث في الخلية الجنسية أن تنتقل إلى الذرية التالية (ويسمى ذلك الانتقال العمودي للأمراض الوراثية). وتستطيع عوامل عديدة كالڤيروسات وبعض الكيماويات والضوء فوق البنفسجي والأشعة المؤيِّنة (Ionizing radiation) أن تزيد من معدل حدوث الطفرات. وغالباً ما تحدث الطفرات في الخلايا الجسمية، وهي بذلك تُمرر إلى الأجيال المتعاقبة من الخلايا نفسها ضمن الكائن نفسه. وقد أصبح واضحاً الآن أن عدداً من الأمراض، وربما معظم السرطانات، تنجم عن هذا الانتقال الأفقي للطفرات المُحرَّضة.

الكروماتين (Chromatin) هو المادة الكروموسومية المستخلصة من نوى خلايا الكائنات حقيقيات النوى:

يتألف الكروماتين من جزيئات طويلة جداً من الدنا (DNA) مضاعفة الطّاق، مع كتلة معادلة تقريباً من بروتينات قلوية صغيرة نسبياً تدعى الهيستونات (Histones)، بالإضافة إلى كمية أصغر من بروتينات لاهيستونية (معظمُها حمضياً وأكبر من الهيستونات) وكمية صغيرة من الرنا (RNA). وتضم البروتينات اللاهيستونية تلك البروتينات التي تساهم في تَنَسُّخ الدنا (DNA) (كإنزيمات الطوبوإيزوميراز (Topoisomerases)) والانتساخ (كَمُعَقّد بوليميراز الرنا (RNA polymerase)).

ويعادل طول حلزون الدنا (DNA) مضاعف الطاق في كل كروموسوم آلاف المرات من طول قطر نواة الخلية. وإحدى وظائف هذه الجزيئات المرافقة للدنا (DNA)، لاسيما الهيستونات، هي تكثيف الدنا (DNA). ولقد بيَّنت الدراسات التي أجريت بالمجهر الإلكتروني على الكروماتين وجود أجسام كروية كثيفة تدعى الجسيمات النووية (Nucleosomes) يبلغ قطرها نحو 10 نم، ويتصل بعضها ببعضها الآخر بواسطة خيوط الدنا (DNA filaments) (الشكل 38-1). وتتألف هذه الجسيمات من الدنا (DNA) المُلتَفّ حول تَجمّع من جزيئات الهيستون.



الشكل 38-1 : صورة بالمجهر الإلكتروني للجسيمات النووية مرتبطة بواسطة طيقان من الحمض النووي (يمثل الخط مسافة 2.5 ميكرومتر).

الهيستونات هي أكثر البروتينات الكروماتينية وفرة:

الهيستونات هي أسرة صغيرة من البروتينات القلوية ذات الصلة الوثيقة ببعضها. وتتميز منها الهيستونات H1 بكونها الأقل ارتباطاً بالكروماتين، وهي بالتالي سهلة الانتزاع باستعمال محلول ملحي يصبح الكروماتين بعد ذلك ذواباً. ويتكون لب الجسيمات النووية المعزولة من أربعة صفوف من الهيستونات H2A وH2B وH3 وH4. وتكون بنية الهيستونات الغنية بالليسين (H2A و H2B) مصانة (محفوظة: Conserved) بشكل ملحوظ بين أنواع الكائنات الحية، أما بنية الهيستونات الغنية بالأرجنين (H3 و H4) فتكون مصونة بشكل أكبر. هذا التماثل في البنية بين الأنواع يوحي أن وظيفة الهيستونات واحدة في جميع حقيقيات النوى،

وأن الجزيء بكامله يشترك بشكل ما في أداء هذه الوظيفة. ويحوي ثلثا الجزيء بدءاً من النهاية الكربوكسيلية الطرفية متوالية عادية من الأحماض الأمينية، أما ثلثها الطرفي الأميني (N-terminal third). فيكون غنياً بالأحماض الأمينية الأساسية (Basic). وتخضع هيستونات لب الجسيمات النووية لخمسة أنماط من أشكال التعديل التكافئية هي الأستلة والمَثْيلة والفسفتة وضم الريبوزيل (ADP-ribosylation) والارتباط التكافئي (H2A فقط) بالبروتين النووي، اليوبيكيتين (Ubiquitin). ومن المحتمل أن تقوم هذه التعديلات بدور هام في بنية الكروماتين ووظيفته، كما هو مبيَّن في (الجدول 38-1).

1 – تترافق أستلة الهيستونات H3 و H4 مع تنشيط أو تعطيل انتساخ الجين (الفصل 44).
2 – تترافق أستلة الهيستونات اللبية مع تجميع الكروموسوم خلال تنسخ الدنا (DNA).
3 – تترافق فسفتة الهيستون H1 مع تَكثُّف الكروموسومات خلال دورة التَّنسُّخ.
4 – تترافق إضافة الريبوزيل إلى الهيستونات مع تصليح الدنا (DNA repair).

الجدول 38-1 : الأدوار المحتملة للهيستونات المُعَدَّلة .

تتآثر الهيستونات فيما بينها بطريق نوعية جداً. ويشكل H3 و H4 رباعي القسيمات: مواحيد (Tetramer) يحتوي على جزيئين من كل منهما $(H3/H4)_2$؛ في حين يشكل H2A و H2B مثنوياً (H2A-H2B) (dimer) ومعقدات قليلة القُسَيّمات من الشكل $(H2A\text{-}H2B]_n$. وفي ظل الظروف الفيزيولوجية، يرتبط اثنان من الرباعيات الهيستونية لتشكيل مثمن (مثمون) الهيستون المُثمَّن (Histone octamer).

يحتوي الجسيم النووي على الهيستون والدنا (DNA):

عند مزج مُثمَّن الهيستون مع دنا (DNA) معزول مضاعف الطاق، فإننا نحصل على ذات النمط من انعراج أشعة X الذي نحصل عليه من الكروماتين المعزول حديثاً. وتؤكد الدراسات بالمجهر الإلكتروني وجود الجسيمات النووية المُعاد تشكيلها؛ بالإضافة إلى ذلك، فإن إعادة تشكيل (Reconstitution) الجسيمات النووية من الدنا (DNA) والهيستونات H2A وH2B وH3 وH4 هي عملية مستقلة عن المنشأ الحيوي أو الخلوي لتلك المكونات المختلفة. وليس من الضروري وجود الهيستون H1 أو البروتينات اللاهيستونية لتتم إعادة تشكيل لب الجسيم النووي.

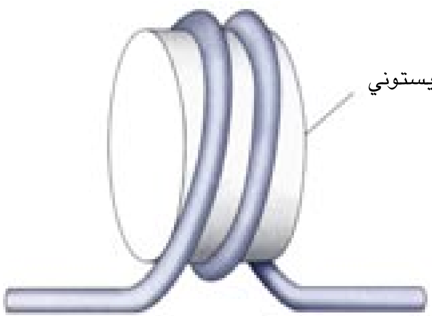
يلتف الدنا (DNA) في الجسيم النووي التفافاً فائقاً بشكل حلزوني يساري حول سطح الهيستون المثمَّن قُرصي الشكل المُؤلَّف من رباعي مركزي من الهيستونات $(H3/H4)_2$ H3 - H4 ومَثنَويّين من H2A-H2B (الشكل 38-2).وتتآثر هيستوناتُ اللب مع الدنا (DNA) على الوجه الداخلي للالتفاف الفائق دون أن تكون ناتئة.

يمكن للرباعي H32-H42 بذاته أن يحدث خواص شبيهة بالجسيم النووي مع الدنا (DNA)، وهو بالتالي يتمتَّع بدور مركزي في تشكيل الجسيمات النووية. وتؤدي إضافة مثنويين من H2B-H2B إلى تثبيت الجسيم الأولي، حيث يربطان بشكل متين نصفي لفتين إضافتين من الدنا (DNA) كانتا مرتبطتين سابقاً ارتباطاً ضعيفاً بالرباعي $(H3\text{-}/H4)_2$؛ وهكذا، هناك 1.75 دورة من الحلزون الفائق للدنا (DNA) حول سطح مثمَّن الهيستون، مؤدية بهذا الشكل إلى حماية 146 زوجاً من أسس الدنا (DNA)، ومشكلة لبَّ الجسيم النووي (الشكل 38-2). وتكون الجزيئات اللبية مفصولة بمنطقة رابطة من الدنا (DNA) بطول 30 زوجاً من الأسس تقريباً. ويكون معظمُ الدنا (DNA) بشكل سلاسل متكررة من هذه البنى، معطياً ما يدعى بمظهر «السبحة» أو «عُقد الحبل» عند فحصه بالمجهر الإلكتروني.

من المحتمل أنّ من يقوم بتواسط عملية تجميع الجسيم النووي هو البروتين النووي الأنيوني، النوكليوبلازمين (أو البلازمين النووي) (Nucleoplasmin). فالهيستونات الكاتيونية بشدة قد ترتبط بشكل غير نوعي بالدنا (DNA) الأنيوني القوي من خلال تشكيل جسور ملحيّة. ومن الواضح بأن مثل هذه التآثرات غير

النوعيـة بين الهيسـتونات والدنا (DNA) يكون لهـا تأثير ضـار على كل من تشكيل الجـسـيـمـات النووية ووظيـفـة الكرومـاتين. والنوكليـوبلازمين هو بروتين مُـخـمَّس (Pentameric) لا يرتبط لا بالدنا (DNA) ولا بالكرومـــاتين، ولكن يمكنه أن يتــآثر بشكل عكسي مع الهيستونات بطريقة لا تعود معها قادرة على الالتصاق بشكل غير نوعي بالسطوح المشحونة سلبياً، مثل الدنا (DNA). ويبدو أن النوكليوبلازمين يخلق في النواة وسطاً أيونياً مناسـباً يسمح بحدوث تآثرات نوعية مـا بين الهيسـتونات والدنا (DNA) وتشكيل الجسيمات النووية. وعندما يتجمع الجسيم النووي يجب أن يُحـرَّر بروتين النوكليـوبلازمين الـهـيسـتـونات. ويبـدو أن الجـسـيـمـات النووية تبـدي تفـضـيـلاً لمناطق مـحـددة نوعيـة من جزيئـات الدنا (DNA)، إلا أن القـاعـدة في هذا التوزُّع اللاعشـوائي ـ والذي يُدعى التراحُل (Phasing) ـ غير مـعـروفـة. وهـي ربما تتعلق بالمرونة الفيزيائية النسبية لبعض متواليات النوكليوتيدات القـادرة على احتواء مناطق الالتواء ضمن الالتفاف الفائق.

يبدو أن الحشو الفائق (Super-packing) للجسيمات النووية داخل النوى يعتمد على التآثرات ما بين الهيستونات H1 والجسيمات النووية المجاورة.

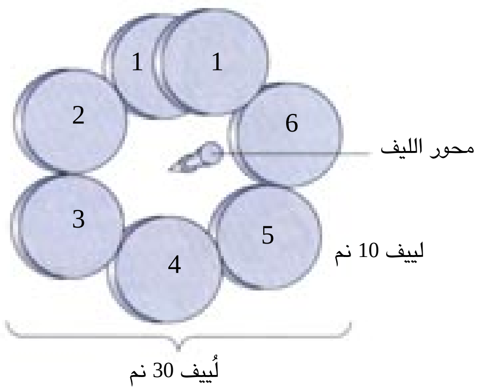


الشكل 2-38 : نموذج لبنية الجسيم النووي، وفيه يلتف الدنا (DNA) حول سطح أسطوانة بروتينية مسطحة تتألف من اثنين من كل من الهيستونات H2A و H2B و H3 وH4. وتكون أزواج أسس الدنا (DNA)، البالغ عددها 146 والمؤلفة من 1.57 لفة حلزونية فائقة، بتماس مع مثمن الهيستون؛ وهذا يحمي الدنا (DNA) من الهضم بواسطة النوكلياز (Nuclease).

تسمح البنى ذات الترتيب الأعلى باكتناز الكروماتين:

تكشف دراسات المجهر الإلكتروني للكروماتين عن وجود اثنين من البنى ذات الرتب الأعلى ـ اللييف 10 نم وليف الكروماتين 25-30 نم ـ والتي تفوق تلك الخاصة بالجسيم النووي ذاته.

يبلغ قطر الجسيم النووي قُرصي الشكل 10 نم وارتفاعه 5 نم. ويبدو أن اللييف ذا العشرة نم (10 nm Fibril) يتألف من جسيمات نووية مرتبة بحيث تتلامس حوافها وتوازي أوجهها المسطحة محورَ الليف (الشكل 38-3). ويلتف اللييف – 10 نم التفافاً فائقاً تالياً تضم كل دورة منه 6-7 جسيمات نووية ليُشكل الليف الكروماتيني 30 نم (الشكل 38-3). وتكون كل دورة من الالتفاف الفائق مسطحة نسبياً، كما تكون أوجه الجسيمات النووية في الدورات المتعاقبة متوازية تقريباً. ويبدو أن الهيستونات H1 تثبت الليف 30 – نم، إلا أن توضّعها ليس واضحاً بعد، وكذا توضع الدنا (DNA) المفساح (DNA spacer). ومن الممكن أن يكون للجسيمات النووية القدرة على تشكيل عدة أنواع من البنى المحشوة. فلكي يجري تشكيل الصبغي التَّفَتّلي (Mitotic chromosome) يجب أن يجري اكتناز الليف 30 نم لمئة ضعف أخرى (انظر لاحقاً).



الشكل 38-3 : البنية المقترحة لليف الكروماتيني 30 نم الذي يتألف من الحلزونات الفائقة لستة لييفات 10 نم من الجسيم النووي. (محور الليف 30 نم عمودياً على مستوى الصفحة).

في كروموسومات الطور البيني (Interphase)، تبدو ألياف الكروماتين منتظمة ضمن عرى أو حقول (Domains) مؤلفة من 30000-100000 زوج من الأسس ومُثَبَّتة بشكل سقالات (Scaffolding) أو مطرس داعم (Supporting matrix) ضمن النواة. وقد اقتُرح بأن كل منطقة ذات عروة في الكروماتين تمثل وظيفة وراثية منفصلة وتحتوي على المناطق المُرمِّزة وغير المُرمِّزة من الجين.

بعض مناطق الكروماتين نَشطة وبعضها الآخر غير نَشطة:

تضم كل خلية من خلايا أي من الكائنات كثيرة الخلايا (التوالي) (Metazoa) بشكل عام المعلومات الوراثية نفسها، مُمثَّلة في المتواليات نفسها من الدنا (DNA)؛ لذا يمكن تفسير الاختلاف ما بين الأنماط المختلفة من الخلايا ضمن الكائن الحي نفسه بالتعبير التّمايزي للمعلومات الوراثية نفسها. وقد تبيَّن أن الكروماتين الذي يحوي جينات نشطة (أي الكروماتين النشط انتساخياً (Transcriptionally active)) يختلف بعدة طرق عن ذلك الذي يحتوي على مناطق غير نشطة؛ حيث تبدو بنية الجسيم النووي للكروماتين النَّشط متبدلة أو حتى غائبة في المناطق شديدة النشاط؛ ويحتوي الدنا (DNA) في الكروماتين النَّشط على مناطق كبيرة (طولها نحو 100000 أساس) تكون ذات حساسية عالية للهضم من قبل إنزيمات النوكلياز (Nuclease) مثل الدناز I (DNase I) الذي يقوم بقطع طاق واحد في أي قطعة من الدنا (DNA) (أي لا يحتاج إلى وجود متوالية نوعية)، ثم يقوم بهضم كامل الدنا غير المَحمي بالبروتينات إلى نوكليوتيداته منزوعة الأكسجين. وتدل حساسية هذه المناطق النَّشطة انتساخيّاً من الكروماتين تجاه الدناز I (DNase) على قابليته للانتساخ، وليس على الانتساخ ذاته؛ وهناك علاقة بينها وبين النقص النسبي في ثمالة 5 – ميثيل ديوكسي السيتيدين في دنا (DNA) العديد من الجمل الحيوية.

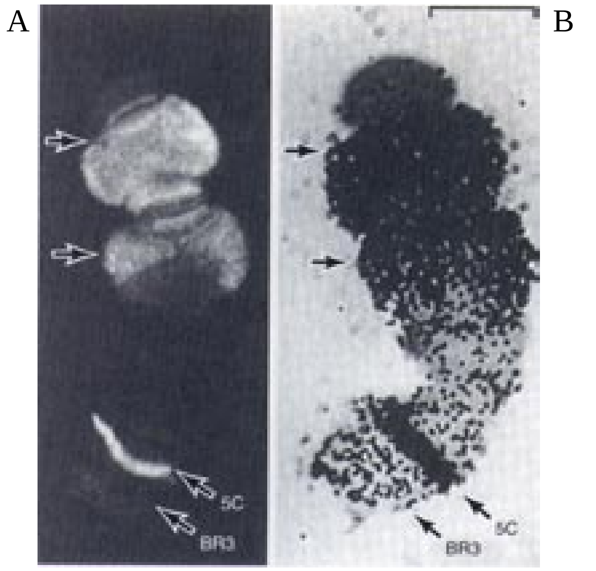
ويوجد ضمن المناطق الكبيرة النَّشطة من الكروماتين امتدادات نوكليوتيدية أقصر (نحو 100-300 نوكليوتيد) تبدي حساسية أكبر تجاه الدناز (DNase) (نحو عشرة أضعاف أخرى). تنجم هذه المواضع فائقة الحساسية على الأرجح من وجود بنية فراغية تفسح مجالاً لوصول إنزيمات النوكلياز إلى الدنا (DNA).

وغالباً ما تتوضع هذه المناطق مباشرة قبل (Upstream) بداية الجين الفعال، وهي عبارة عن المواضع التي اضطربت فيها بنية الجسيمات النووية نتيجة ارتباط البروتينات اللاهيستونية (انظر الفصلين 39 و 41). ويبدو في كثير من الأحوال أنه إذا كان الجين قادراً على الانتساخ، فيجب أن يكون له موضع فائق الحساسية تجاه الدناز (DNase) في الكروماتين الواقع مباشرة قبل بدايته. وتتسبب البروتينات المشتركة في الانتساخ، وتلك التي تشترك في الحفاظ على إمكانية الوصول إلى طاق المرصاف، في تشكيل المواضع فائقة الحساسية التي غالباً ما تزودنا بالدليل الأول على وجود عنصر لمراقبة الانتساخ ومكان توضعه.

يكون الكروماتين غير النَّشط انتساخياً محشواً بكثافة خلال الطور البيني من الانقسام الخلوي كما تُبين دراسات المجهر الإلكتروني، ويطلق عليه اسم الكروماتين المتغاير (Heterochromatin)؛ في حين يتلوَّن الكروماتين النَّشط انتساخياً بشكل أقل كثافة، ويطلق عليه اسم الكروماتين الحقيقي (Euchromatin). وبوجه عام، يتنسخ الكروماتين الحقيقي خلال دورة حياة الخلايا الثديية في مرحلة أبكر من توقيت تنسخ الكروماتين المتغاير.

هناك نمطان من الكروماتين المتغاير، هما الكروماتين المتغاير البنيوي (Constitutive heterochromatine) والكروماتين المتغاير الاختياري (Facultative). ويكون الكروماتين المتغاير البنيوي متكثفاً دوماً، ومن ثَمَّ غير نَشِط، ويوجد في المناطق القريبة من القسيم المركزي للكروموسوم (Centromere). وعند نهايات الكروموسوم (القسيمات الطرفيَّة (Telomeres)). أما الكروماتين المتغاير الاختياري فيكون متكاثفاً في بعض الأحيان، إلا أنه يكون في أحيان أخرى متناسخاً بشكل نَشِط، ومن ثَمَّ غير متكاثف، ويبدو شبيهاً بالكروماتين الحقيقي. وفي زوج الكروموسوم X عند إناث الثدييات، يكون أحد الكروموسومين X غير نشط انتساخياً بشكل كامل تقريباً، أي أنه متغاير؛ إلا أنه في أثناء تشكل الأعراس (Gametogenesis) يزول تكاثف هذا الكروموسوم ويصبح فعالاً انتساخياً خلال مراحل تكون الجنين المبكر (Embryogensis)، فهو بالتالي كروماتين متغاير اختياري.

توجد في خلايا معيَّنة من الحشرات، مثل الوامئة (ذبابة الخل) (Chironomus)، كروموسومات عملاقة تتنسّخ لعشر دورات متتابعة دون انفصال شقي الكروموسوم. وتصطف هذه النسخ من الدنا (DNA) جنباً إلى جنب بإحكام، وتكوِّن كروموسوماً متشرطاً (Banded) يحوي مناطق من الكروماتين المتكثف وشرائط أفتح من الكروماتين الأكثر امتداداً (انبساطاً). وتكون المناطق النَّشطة انتساخياً من هذه الكروموسومات كثيرة الخيوط الكروموسومية (Polytene chromosomes) منزوعة التكثف بشكل خاص لتُشكل نفائش (Puffs) تبيَّن أنها تحتوي على الإنزيمات المسؤولة عن الانتساخ وأنها مواضع تخليق الرنا (RNA) (الشكل 38-4).



الشكل 38-4: العلاقة بين فعالية بوليميراز الرنا II وتخليق الرنا (RNA). تُنَشَّط عدةُ جينات من جينات يرقات الوامئة عند تعرضها لصدمة حرارية (39° م لمدة 30 دقيقة). A : توزع بوليميراز الرنا B : يدعى أيضاً النمط II في الكروموسوم IV المعزول من الغدة اللعابية، وقد جرى اكتشاف الإنزيم بواسطة التألق المناعي باستخدام أضداد موجهة ضد البوليميراز. وتمثل 5C و BR3 شريطين نوعيَّين من الكروموسوم IV، وتشير الأسهم إلى النفائش. B: صورة شعاعية للكروموسوم IV الذي كان قد حضن مع اليوريدين – H3 لوصم الرنا(RNA). لاحظ العلاقة بين التألق المناعي ووجود الرنا (RNA) المشع (النقط). الخط = 7 ميكرومتر.

يتعضى الدنا (DNA) ضمن بنى تسمى الكروموسومات:

تكتسب الكروموسومات في الطور التالي (Metaphase) من انقسام الخلية لدى الثدييات تناظراً ثنائياً يتصل فيه شِقا الكروموسوم المُتآخيان (Sister chromatids) والمتماثلان عند القُسَيّم المركزي الذي يكون موضعه النسبي صفة مميزة لكل زوج كروموسوم (الشكل 38-5). هذا القُسَيم هو عبارة عن منطقة غنية بالزوج A-T بطول 130 زوجاً تقريباً، ويربط عدة بروتينات بألفة عالية. ويؤمن هذا المعقد، الذي يدعى الحيِّز الحركي (Kinetochore)، مرساة لمغزل الانقسام التفتُّلي، وبذلك فهو بنية ضرورية لحدوث الانفصال الكروموسومي خلال الانقسام التفتُّلي (Mitosis) (الشكل 38-6). تحتوي نهايتا كل كروموسوم على بُنى تُدعى القُسَيّمات الطرفية (Telomeres)، وتتألف من متواليات متكررة قصيرة غنية بالزوج T-G. وتحوي القُسَيّمات الطرفية البشرية عدداً متبايناً من تكرارات المتوالية $5^\backslash$-TTAGGG-$3^\backslash$ يمكن أن تمتد عدداً من كيلوات الأسس. ويكون التيلوميراز (Telomerase) (مُخَلِّقَة القُسَيّمات الطرفية) هو الإنزيم المسؤول عن تخليق القُسَيّم الطرفي والمحافظة على طوله. ولأن تقاصرَ القُسَيّم يترافق بتحوُّل خبيث (وبالتشيخ أو كِبر السن)، أصبح التيلوميراز هدفاً مثيراً للمعالجة الكيميائية السرطانية. ويحتوي كل شق كروموسومي متآخي على جزيء واحد من الدنا (DNA) مضاعف الطاق. ويكون مقدار الحشو في جزيء الدنا (DNA) خلال الطور البيني أقل كثافة مما هو عليه في الكروموسوم المتكثف خلال الطور التالي الذي تكون كروموسوماته غير نَشِطة انتساخيّاً.

يتألف المجين الفرداني (Haploid genome) البشري من نحو 3×10^9 زوجاً من الأسس أو النوكليوتيدات، ومن نحو 1.7×10^7 من الجسيمات النووية. وهكذا، فإن كل واحد من الـ 23 شقاً كروموسوماً في الجين الفرداني البشري يضم وسطياً 1.3×10^8 نوكليوتيداً في جزيء واحد من الدنا (DNA) مضاعف الطاق. ويجب أن ينضغط (أو يكتنز) طول كل جزيء من الدنا (DNA) نحو 8000 مرة لتوليد بنية كروموسوم الطور التالي المتكّثف. وفي كروموسومات الطور التالي، تكون الألياف الكروماتينية (25-30 نم) متطوية أيضاً ضمن سلسلة من الحقول ذات العرى، تتثبت الأقسام القريبة منها إلى دعامة بروتينية لاهيستونية. ويوجز (الجدول 38-2) نسبة الانضغاط (الحشو) في كل ترتيب بنيوي للدنا (DNA).

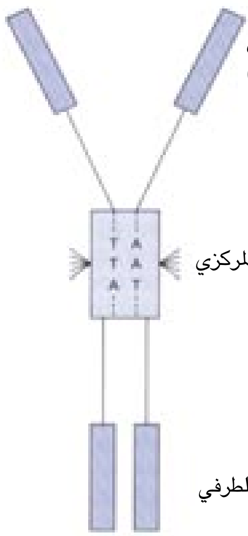


الشكل 38-5: شقّا الكروموسومي (الكروماتيدان) المتآخيان للصبغي البشري 12 (تكبير 27850 مرة).

ليست عملية ضغط البروتينات النووية ضمن الكروماتيدات عشوائية كما تثبت الأنماط النوعية المشاهدة لدى تلون الكروموسومات بملونات نوعية كالكيناكرين (Quinacrine) أو ملون جيمزا (Giemsa) (الشكل 38-7).

يكون نموذج تلوين المجموعة الكاملة للكروموسومات أو ما يُسمى مُتَمِّمَة الكروموسومات (Chromosome complement) متماثلاً بين أفراد النوع الواحد؛ إلا أنه يختلف بشكل واضح عن الأنواع الأخرى حتى ذات الصلة القوية منها. هذا يعني أن تعبئة البروتينات النووية في كروموسومات حقيقيَّات النوى العليا تعتمد على الخصائص النوعية لجزيئات الدنا (DNA) المتعلّقة بالنوع (Species-specific).

وقد سمح استخدام طرق التلوين المتخصصة بالمشاركة مع المجهر عالي المَيْز لعلماء الوراثة بتحديد توضّع آلاف الجينات ضمن مناطق نوعية من كروموسومات البشر والفئران.



الشكل 38-6: البنية التخطيطية لكروموسوم بشري في الطور التالي (Metaphase) يكون القسيم المركزي غنياً بالأزواج AT ويربط شقي الكروموسوم المتآخيين خلال الطور التالي، كما يرتبط بمغزل التفتل. وينتهي كل طرف من شقّي الكروموسوم بقسيم طرفي مؤلف من سلاسل طويلة من المتواليات التكرارية (هذه المتوالية في الإنسان هي TTAGGG) n).

شكل الكروماتين	نسبة الحشو
الدنا مضاعف الحلزون العاري	نحو 1.0
الليف 10 نم للجسيمات النووية	10-7
الليف الكروماتيني 20-30 نم للجسيمات النووية فائقة الحلزنة	60-40
كروموسوم العُرى أو الوشائع المتكثّف في الدور التالي	8000

الجدول 38-2 : نسب الانضغاط (الحشو) لكل رتبة من رتب بنية الدنا (DNA).



الشكل 38-7: النمط النووي (Karyotype) البشري (لرجل لديه التركيب السوي 46 ، XY) الذي تم تلوين كروموسوماته بطريقة جميزا ورُتبت حسب اتفاقية باريس.

غالباً ما يتخلل مناطق الترميزِ متواليات اعتراضية:

عـادة مـا يتـخلل مناطق التـرمـيـز (Coding regions) من الدنا(DNA) (والتي ستظهر مُنتسَخاتها أخيراً في الهيولى بشكل جزيئات رنا مرسال (mRNA) مفردة) في مجين حقيقيات النوى متواليات كبيرة اعتراضية (Intervening sequences) من دنا (DNA) غير مُرَمِّز (Noncoding). وهذا يعني أن النّسخ الأولية من الدنا (DNA)، التي تسمى جزيئات الرنا المتغايرة (hnRNA)، تحتوي على متواليات اعتراضية غير مرمِّزة من الرنا (RNA) يجب نزعها في عملية تتضمن أيضاً وصل الأجزاء المُرمِّزة معاً بشكل مناسب يؤدي إلى تشكيل الرنا المرسال (mRNA) الناضج (mature mRNA). ويتخلل معظم المتواليات المُرمِّزة لجزيء رنا (RNA) وحيد ضمن المَجين (ومن ثم في النسخة الأولية) واحد على الأقل (وقد

يصل حتى 50 في بعض الحالات) من المتواليات الاعتراضية غير المُرمزة التي تُدعى الإنترونات (Introns). وغالباً ما تكون الإنترونات أطول بكثير من مناطق الترميز المستمرة (تدعى الإكسونات (Exons)).وقد شرحت معالجة المُنتسخ الأولي بالتفصيل في (الفصل 39)، وتتضمن نزعَ الإنترونات وتضفير (Splicing) الإكسونات المتجاورة معاً.

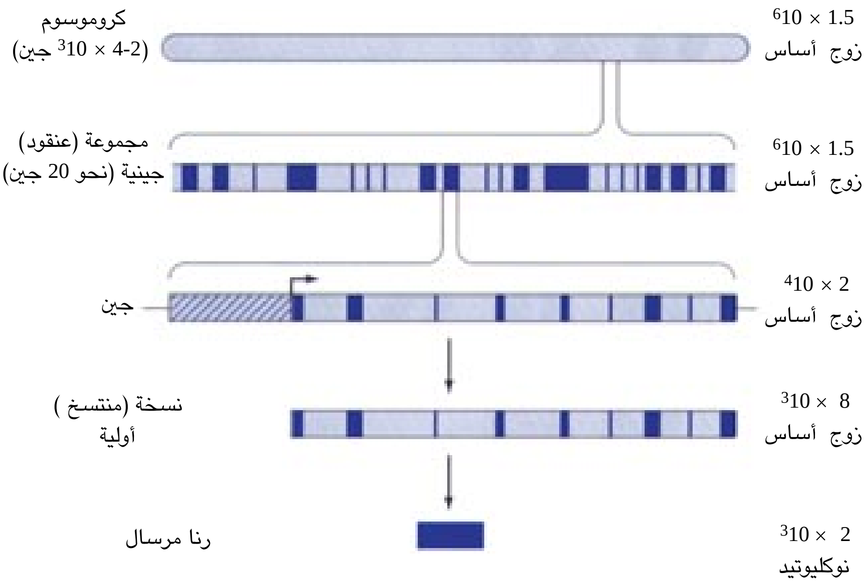
إن وظيفة المتواليات الاعتراضية أو الإنترونات غير واضحة؛ فهي قد تقوم بفصل المناطق الوظيفية (الإكسونات) المرمزة بعضها عن بعض بشكل يسمح بإعادة الترتيب الجيني عن طريق التأشيب بسرعة أكبر مما لو كانت جميع المناطق المرمزة لوظيفة جينية محدَّدة موجودة بشكل مستمر ومتجاور. وقد يسمح مثل هذا المعدل المعزَّز لإعادة الترتيب الجيني للمناطق الوظيفية بحدوث تطور أسرع للوظائف الحيوية. ويوضح (الشكل 38-8) العلاقات فيما بين كلّ من الدنا (DNA) الصبغي والعناقيد (التجمعات) الجينية على الكروموسات والبنية الجينية إكسون – إنترون والناتج النهائي (mRNA).

معظم مجين الثدييات فائض والكثير منه لا يُنتسخ:

يتألف المجين الفرداني لكل خلية بشرية من 3 × 10^9 زوجاً من أسس الدنا (DNA) موزَّعة في 23 كروموسوماً. ويحتوي المجين الفرداني الكامل على كمية كافية من الدنا (DNA) لترميز نحو 1.5 مليون زوج من الجينات؛ إلا أن دراسة معدلات حدوث الطفرات والتعقيدات في مجين الكائنات الحية العليا توحي بشدة بأن لدى الإنسان نحو 100,000 بروتين فقط. وهذا يعني أن معظم الدنا (DNA) غير مُرَمِّز، أي أن معلوماته لا تُترجم مُطلقاً إلى متوالية من الأحماض الأمينية في جزيء بروتيني.

وبالطبع، يقوم بعض هذا الفائض من متواليات الدنا (DNA) بتنظيم التعبير الجيني خلال التطور والتمايز والتكيف مع البيئة. ومن الواضح أن بعض هذا الفائض يشكل المتواليات الاعتراضية التي تفصل مناطق الترميز في الجينات، إلا أن القسم الأكبر من هذا الفائض يبدو أنه مؤلف من عدة مجموعات من المتواليات المتكررة (Repeated sequences) التي لم تعرف لها وظيفة بعد.

يمكن تقسيم الدنا (DNA) في مجين حقيقيات النوى إلى «صفوف مختلفة من التسلسلات» (Sequence classes)، وهي الدنا(DNA) ذو التسلسل الفريد أو غير المُتكرر (Unique or nonrepetitive DNA) والدنا (DNA) ذو التسلسل المتكرر (Repetitive sequence DNA). وفي المَجين الفرداني، عادة ما يشمل الدنا (DNA) ذو التسلسل الفريد النّسخ المفردة للجينات التي ترمِّز البروتينات. ويشمل الدنا (DNA) المتكرر في المَجين الفرداني متواليات يتراوح عدد النسخ منها بين 2 وحتى 10^7 نسخة في الخلية.



الشكل 38-8: العلاقة بين دنا (DNA) الكروموسومات والرنا المرسال (mRNA). تتوزع مُتَمّمة الدنا (DNA) الفردانية البشرية المؤلفة من 3 × 10^9 زوجاً من الأسس على 23 كروموسوماً تتجمع الجينات عليها. وقد يكون متوسط طول الجين 20000 زوج من الأسس بما في ذلك المنطقة التنظيمية (المنطقة المخططة) التي تكون عادة مُتوضعة في النهاية 5 للجين. وقد أظهرت المنطقة التنظيمية هنا على أنها مجاورة لموضع ابتداء الانتساخ (السهم). وتوجد في أغلب جينات حقيقيات النوى إكسونات وإنترونات بشكل متناوب. ويوجد في مثالنا هذا تسعة إكسونات (الخطوط القاتمة) وثمانية إنترونات (المناطق الفاتحة). ويجري انتزاع الإنترونات من المُنتَسَخ الأولي بتفاعلات المعالجة (Processing)، ثم تُربط الإكسونات معاً بالتتابع لتشكيل الرنا المرسال (mRNA) الناضج.

يكون أكثر من نصف دنا (DNA) حقيقيات النوى على شكل متواليات فريدة أو غير متكررة:

يعتمد هذا التقدير (وكذلك توزع الدنا (DNA) ذي التسلسل التكراري) على مجموعة من تقنيات تهجين الدنا مع الرنا (DNA-RNA hybridization). وقد استخدمت طرق مماثلة لتحديد عدد الجينات النَشِطة ضمن مجموعة من جزيئات الدنا (DNA) فريد التسلسل. ففي الخميرة (Yeast)، وهي من حقيقيات النوى الدُّنيا، يجري التعبير عن نحو 4000 جين. أما في الأنسجة النموذجية لحقيقيات النواة العليا (كالكبد والكلية في الثدييات) فيجري التعبير عن نحو 10000-15000 جين. وبالطبع يجري التعبير عن تواليف (Combinations) مختلفة من الجينات في كل نسيج، وتبقى كيفية حدوث هذا واحداً من أكبر الأسئلة التي لم تتم الإجابة عليها حتى الآن في علم الأحياء.

يتألف 20-30 ٪ من دنا (DNA) مجين الإنسان على الأقل من متواليات (أو تسلسلات) تكرارية:

يمكن تصنيف دنا (DNA) التسلسلات التكرارية تجاوزاً إلى معتدل التكرار أو شديد التكرار. وتتألف المتواليات شديدة التكرار (Highly repetitive sequences) من 5-5000 زوج من الأسس متكررة تباعاً لمرات عديدة. وعادة ما تتجمع هذه التسلسلات في القسيمات المركزية والنهائية للكروموسوم، وتوجد بنحو 1-10 ملايين نسخة في المجين الفرداني. وهذه المتواليات غير نَشِطة انتساخيّاً، وقد تقوم بدور بنائي في الكروموسومات.

تُعَرَّف المتواليات معتدلة التكرار(Moderately repetitive sequences) على أنها تلك التي توجد بأقل من 10^6 نسخة في المجين الفرداني، ولا تكون مُتجَمّعة بل مبعثرة بين التسلسلات الفريدة. وفي الكثير من الحالات، يجري انتساخ هذه التكرارات الطويلة المبعثرة بواسطة بوليميراز الرنا II- (RNA polymerase II) وتحتوي على قلنسوات لا يمكن تمييزها عن تلك التي في الرنا المرسال (RNS) (mRNA).

تُصنف المتواليات معتدلة التكرار بناء على طولها إلى متواليات تكرارية طويلة متناثرة (لاين) (Long Interspersed Repeat Sequences "LINEs") أو متواليات تكرارية متناثرة قصيرة (ساين) (Short Interspersed Repeat Sequences; SINEs). ويبدو أن كلا النمطين هو ريتروبوزونات (Retroposons)، أي أنها نشأت بسبب حركة من موضع لآخر (نقل المواضع (Transposition))عبر وسيط من الرنا (RNA) ينتسخ إلى دنا بواسطة إنزيم المنتسخة العكسية (Reverse transcriptase) التي تعمل على انتساخ مرصاف الرنا (RNA) إلى الدنا (DNA). وتحتوي مجينات الثدييات على 20-50 ألف نسخة من متواليات اللاين (LINEs) يتراوح طولها بين 6 و 7 كيلو أساس تمثل عائلات من العناصر المتكررة المحددة للنوع والخاصة به. وأما الساين (SINEs) فهي أقصر (70-300 أساس)، وقد يوجد منها أكثر من 100000 نسخة في كل مجين؛ ومن ضمن أنواعها التي توجد في المجين البشري، هناك مجموعة أو فصيلة تدعى عائلة ألو (Alu family) يوجد منها نحو 500000 نسخة في المجين الفرداني، وتمثل نحو 5-6 ٪ من المجين البشري. وتنتسخ عناصر هذه الفصيلة (Alu) في الإنسان، وكذلك مضاهئاتها المتعلقة بها في الحيوانات الأخرى، كأجزاء من جزيئات الرنا المتغايرة (hnRNA)، أو كجزيئات رنا (RNA) مستقلة تشمل، ضمناً، كلاً من 4.5S RNA و 7S RNA اللذين درسا بشكل جيد. وتكون أفراد هذه المجموعات بالذات مصانة بشكل جيد ضمن النوع، وكذلك ما بين الأنواع المختلفة للثدييات.

وقد تكون مكونات التكرارات المبعثرة القصيرة، بما فيها أفراد عائلة ألو (Alu)، عناصر متحركة قادرة على القفز من وإلى المواضع المختلفة ضمن المجين (انظر لاحقاً). وهذا قد يؤدي إلى نتائج كارثية كما هو الحال عند غرز (Insertion) متواليات الألو (Alu) في أحد الجينات الذي يتسبب بعدها بحدوث الوُرام العصبي الليفي (Neurofibromatosis).

المتواليات المتكررة الساتلة الدقيقة (Microsatellite):

يوجد أحد أصناف المتواليات المتكررة بالشكلين المبعثر والمُتجمع بصفوف

متعاقبة. وتتألف هذه المتواليات الساتِلة الدقيقة (المَيكروساتليَّة (Microsatellite)) من 2-6 أزواج من الأسس تتكرر حتى 50 مرة. وأكثر ما توجد هذه المتواليات بشكل تكرارات لثنائيات النوكليوتيد AC على أحد الطاقين و TG على الطاق المعاكس، إلا أنه يمكن أن توجد بعدة أشكال أخرى (CG و AT و CA ضمناً). ويتراوح عدد المواضع من المَجين التي توجد فيها المتواليات AC بين 50000 و 100000 موضع. وفي أي من هذه المواضع، قد يختلف عدد هذه التكرارات على الكروموسومين لتسبب تغاير الزيجوت (Heterozygosity) بالنسبة إلى عدد نسخ رقم معين من هذه التسلسلات الساتلة الدقيقة. ويعتبر هذا خِلَّة موروثة وقابلة للتوريث، وبسبب عدد التكرارات AC وسهولة كشفها باستخدام تقنية تفاعل البوليميراز التسلسلي (Polymerase Chain Reaction “PCR”) (الفصل 42)، فهي مفيدة جداً في إنشاء خرائط الارتباطات الجينية (Genetic linkage map). وتترابط معظم الجينات مع واحد أو أكثر من الواصمات (Markers) المَيْكروساتليّة بحيث يمكن التحقق من الموضع النسبي للجين على الكروموسوم، وكذلك من الارتباط ما بين جين معيَّن ومرض ما. وباستخدام تقنية الـ PCR، يمكن تقصي عدد كبير من أفراد أسرة ما لكشف تعدد أشكال مَيكْروساتل معين (Microsatellite polymorphism). وقد يكون ارتباط تعدد أشكال معين مع جين ضمن أفراد العائلة المصابين ـ وعدم وجود هذا الارتباط في الأفراد غير المصابين ـ الدليل الأول على الأساس الوراثي للمرض.

يمكن أن تؤدي المتواليات ثلاثية النوكليوتيد التي يتزايد عددها (عدم الثباتية الميكروساتليّة) إلى حدوث المرض. ويرتبط التسلسل المتكرر غير الثابت $p(CGG)_n$ بمتلازمة الكروموسوم X الهش أو المعطوب (Fragile X syndrome). وهناك تكرارات أخرى ثلاثية النوكليوتيد، حدثت لها طفرات حركية (عادة ما تكون زيادة في العدد)، ترتبط مع كل من رَقَص هَنْتِنْجتُون (Huntington’s chorea) (الثلاثي CAG) وحثل التأتر العضلي (Myotonic Dystrophy) (الثلاثي CTG) وضمور العضلات النخاعي البصلي (Spinobulbar muscular atrophy) (الثلاثي CAG) وداء كينيدي (الثلاثي CAG).

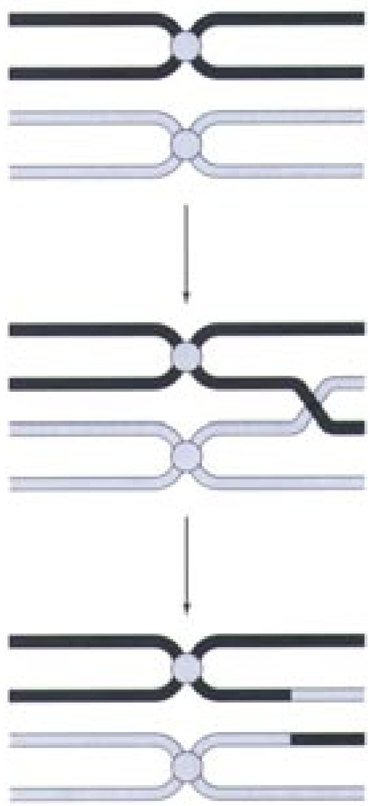
قد تتغير المادة الوراثية أو يعاد ترتيبها:

إن أي تغير في تتالي أسس البورين والبَيريميدين في الجين، والذي قد ينجم عن تعديل أو نزع (خبن) أو غَرز (إقحام) لواحد أو أكثر من الأسس، قد يؤدي إلى اختلاف المنتج الجيني، وهو في معظم الحالات عبارة عن بروتين. ويؤدي مثلُ هذا التغير في المادة الوراثية إلى حدوث الطفرة (Mutation) (نوقشت نتائجها المفصّلة في الفصل 40).

التأشيب الكروموسومي أحد سبل إعادة ترتيب المادة الوراثية:

يمكن تبادل المعلومات الوراثية بين الكروموسومات المتشابهة أو المتماثلة. ويحدث هذا التبادل أو التأشيب (Recombination) بشكل رئيس أثناء انتصاف (Meiosis) خلايا الثدييات، ويتطلب اصطفاف الكروموسومات المتماثلة جنباً إلى جنب، الأمر الذي غالباً ما يحدث بدقة تامة. وتجري عملية التعابر (Crossing over) كما هو مبين (الشكل 38-9)، وتؤدي عادة إلى تبادل متساو ومتبادل للمعلومات الوراثية بين الكروموسومات المتماثلة. وإذا كانت الكروموسومات المتماثلة تمتلك ألائل (Alleles) مختلفة للجين نفسه، فقد ينجم عن التعابر فوارق ملحوظة في الارتباطات الوراثية قابلة للتوريث. وفي الحالة النادرة، حيث يكون اصطفاف الكروموسومات المتماثلة غير دقيق، فإن التّعابر أو التأشيب قد يؤدي إلى تبادل غير متعادل للمعلومات. وينتج عن ذلك أن يتلقى أحد الكروموسومات مادة وراثية أقل (الخَبْن (Deletion)) ويحصل قرينه على مادة وراثية أكثر (غَرز (Insertion)) أو تضاعف (Duplication) (الشكل 38-9).

يمكن للتعابر غير المتساوي أن يحدث فعلاً في الإنسان، والدليل على ذلك وجود الهيموجلوبينات المسمَّاة ليبور (Lepore) ومضاد ليبور (Anti-Lepore) (الشكل 38-10). ويؤثر التعابر غير المتساوي (Unequal crossover) في المصفوفات المتعاقبة لتكرارات الدنا (DNA)، سواء أكانت جينات الجلوبين المرتبط بعضها ببعض (الشكل 38-10)، أم كانت دنا (DNA) تكرارياً أكثر توفراً. وقد يؤدي التعابر غير المتساوي الناجم عن الانزلاق خلال الازدواج إلى التوسع أو التقلص في عدد نسخ التسلسلات المتكررة، وقد يساهم في توسع أو تثبيت العناصر المختلفة في كامل المصفوفات.



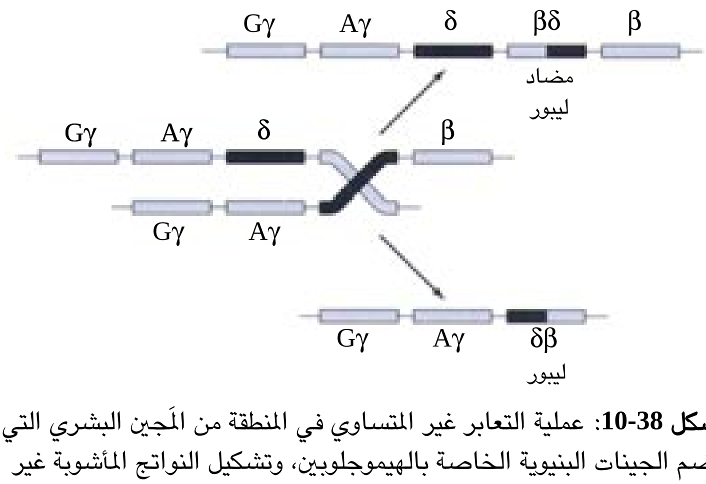
الشكل 38-9: عملية التعابر بين الكروموسومات المتماثلة لتوليد الكروموسومات المأشوبة.

يحدث الإدماج الكروموسومي مع بعض الفيروسات:

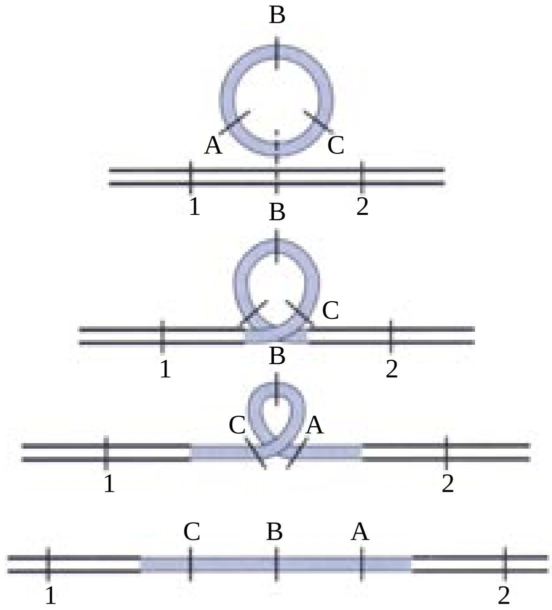
تستطيع بعض ڤيروسات الجراثيم (العاثيات الجرثومية) أن تتأشب مع دنا (DNA) الثوي (المضيف) الجرثومي بطريقة تصبح فيها المعلومات الوراثية للعاثية مُتَضَمَّنة بشكل خطي في المعلومات الوراثية للمضيف. ويحدث هذا الإدماج، وهو نوع من التأشب، بالآلية الموضحة في (الشكل 38-11).

يكسر هيكل مجين العاثية الجرثومية الحلقي، وكذا هيكل جزيء دنا (DNA) الثوي، ثم يعاد لحَم النهايات المناسبة مع الحفاظ على القطبية. ويقوم، مجازاً، دنا العاثية الجرثومية («يصبح خطياً» (Linearized)) عندما يدمج في جزيء الدنا الجرثومي الذي يكون عادة على شكل حلقة مغلقة. ويتم اختيار الموضع من المَجين الجرثومي الذي يدمج فيه مجين العاثية أو يتأشب بإحدى آليتين؛ فإذا كانت العاثية الجرثومية تحتوي على تسلسل دنا مضاه لتسلسل ما في جزيء دنا الثّوي، يمكن أن يحصل تأشب مماثل لذلك الذي يحصل بين الكروموسومات المتماثلة.

أما في الآلية الثانية فتقوم بعض العاثيات الجرثومية بتركيب بروتينات تربط مواضع معينة من الكروموسومات الجرثومية بموضع غير مضاه من دنا العاثية خاص بها ومميز لها. ويحدث الإدماج عند ذاك الموضع، ويقال عنه إنه إدماج «نوعي للموضع» (Site specific). يمكن أن تدمج عدة ڤيروسات حيوانية، لا سيما الڤيروسات المكونة للأورام (Oncogenic) ـ بشكل مباشر، أو من خلال نسخ الدنا (DNA) الخاص بها في حالة ڤيروسات الرنا (RNA) – مع كروموسومات خلايا الثدييات. ولا يكون اندماج دنا الڤيروس الحيواني مع الجين الحيواني «نوعياً للموضع» عادة.



الشكل 38-10: عملية التعابر غير المتساوي في المنطقة من المَجين البشري التي تضم الجينات البنيوية الخاصة بالهيموجلوبين، وتشكيل النواتج المأشوبة غير المتساوية: الهيموجلوبين دلتا ـ بيتا ليبور وبيتا ـ دلتا مضاد ليبور. وتوضح الأمثلة المبيَّنة مواضع التعابر بين ثمالات الأحماض الأمينية.



الشكل 38-11: إدماج المَجين الحلقي لعاثية الجراثيم (التي تضم الجينات A وB وC) ضمن جزيئة دنا(DNA) الثوي (التي تضم الجين 1 و2) والترتيب الناتج للجينات.

قد يؤدي تغيير الموضع أو المُناقلة (Transposition) إلى إنتاج جينات مُعالجة

في خلايا حقيقيَّات النوى، هناك عناصر دناويَّة (DNA) صغيرة (ليست ڤيروسات حكماً) تكون قادرة على تغيير موضعها لتخرج من المَجين وتدخل فيه ثانية بشكل قد يؤثر في وظيفة تسلسلات الدنا (DNA) المجاورة. وتستطيع هذه العناصر المتحرِّكة (تُدعى أحياناً «الدنا (DNA)) الوثَّاب أو القافز» (Jumping DNA) أن تحمل معها المناطق المُجانحة (Flanking) من الدنا (DNA) فتؤثر بعمق في عملية

التطور. وتتميز عائلة الألو (Alu) من الدنا (DNA) ذات التسلسلات معتدة التكرار، والتي ذُكرت أعلاه، بخواص بنيوية مماثلة لنهايات الفيروسات القهقرية (Retroviruses)، وهذا ما يفسِّر قدرة هذه الأخيرة على الاندماج بمَجين الثدييات والانفكاك عنه.

وقد توفَّر الدليل المباشر على حدوث المُناقلة من عناصر صغيرة من الدنا (DNA) إلى المجين البشري. هذا الدليل هو اكتشاف «الجينات المعالجَة» (Processed genes) لجزيئات الجلوبولينات المناعية وألفا ـ جلوبين وبروتينات أخرى متعددة.

وتتألف هذه الجينات المعالجة من تسلسلات من الدنا (DNA) مطابقة تماماً لتسلسلات الرنا المرسال (mRNA) الخاص بالناتج الجيني الموافق أو شبه مُطابقة لها. توجد المنطقة غير المنسوخة في النهاية 5َ والمنطقة المُرَمِّزة من دون إنترونات والذيل عديد الأدينيلات في النهاية 3َ، وكلها متجاورة.

وينبغي أن يكون هذا الترتيب التسلسلي المخصوص للدنا (DNA) ناجماً عن الانتساخ العكسي(Reverse transcription) لجزيءِ رنا مرسال (mRNA) سبقت مُعالجَته بشكل ملائم فنُزعت منه الإنترونات وأضيف الذيل. ولعل الآلية الوحيدة المعروفة التي يمكن أن تدمج هذا المُنتَسخ العكسي في المَجين هي حدوث تغيير الموضع أو المُناقَلة. وفي الواقع، فإن هذه الجينات المُعالجَة تملك تكرارات طرفية قصيرة في نهايتها كتلك التي تحتويها التسلسلات منقولة الموضع في الكائنات الأدنى. ولقد تعرَّضت بعض هذه الجينات المُعالجَة إلى تغيرات عشوائية خلال مراحل التطور، بحيث أصبحت تحتوي على روامز عديمة التوجه (Nonsense codons) تُعيق التعبير عنها (انظر الفصل 40)؛ لذا تُدعى «الجينات الكاذبة» (Pseudogenes).

يؤدي الانقلاب الجيني (Gene conversion) إلى إعادة الترتيب:

بالإضافة إلى التعابر غير المتساوي وتغيير الموضع، هناك آلية ثالثة يمكن أن

تحدث تبدلات سريعة في المادة الوراثية؛ حيث تزدوج في بعض الحالات تسلسلات متشابهة في الكروموسومات المتماثلة أو غير المتماثلة وتحذف أي تسلسلات غير متوافقة فيما بينها؛ وقد يقود ذلك إلى التثبيت العَرَضي لأحد المتغايرات (Variants) ضمن مجموعة التسلسلات التكرارية، مؤدياً بذلك إلى تجنيس (Homogenization) متواليات عناصر فصائل الدنا (DNA) التكرارية. تُدعى هذه العملية الأخيرة «الانقلاب الجيني».

يقوم شقا الكروموسومي المتآخيان (Chromatids) بالتبادل:

بعد أن تتقدَّم خلايا الكائنات حقيقيَّات النوى الضعفانية (Diploid) (كالإنسان) خلال الطور التركيبي S، يصبح محتواها من الدنا (DNA) رباعي الصيغة الكروموسومية (Tetraploid)، ويكون هذا على شكل شقي كروموسومي متآخيين للأزواج الكروموسومية. ويحتوي شقا الكروموسوم المتآخيين على المعلومات الوراثية نفسها، ذلك أن كلاً منها هو ناتج التَّنسُّخ نصف المحافظ لجزيئة الدنا(DNA) الأبوية الأصلية لذلك الكروموسومي. ويحدث التعابر فيما بين شقي الكروموسوم المتآخيين المتماثلة وراثياً. ولا يكون لهذه التبادلات في شقي الكروموسوم المتآخيين (الشكل 38-12) بالطبع نتائج وراثية ما دام التبادل ناجماً عن تعابر متساو.

يعاد ترتيب جينات الجلوبولينات المناعية:

يحدث في خلايا الثدييات بعض من إعادة الترتيب الجيني الهام بشكل سوي أثناء التطور والتمايز؛ ففي الفأر على سبيل المثال، تكون الجينات V_L و C_L الخاصة بجزيء واحد من الجلوبولينات المناعية (انظر الفصل 41) منفصلة بشكل واسع في دنا (DNA) السلالة الجنسية (Germ line)؛ في حين أنه في دنا (DNA) الخلية البلازميَّة المتمايزة والمُنتجة للجلوبولين المناعي، يكون الجينان CL وVL نفسهما قد تحركا وتقاربا في المجين وإلى الوحدة الانتساخية نفسها. ومع ذلك فإن إعادة ترتيب الدنا (DNA) هذا لا يأتي أثناء التمايز بالجِينَين C_L و V_L إلى مواضع

متجاورة (متماسة) في الدنا (DNA)، بل يحتوي الدنا (DNA) على تسلسل متناثر أو متقطِّع مؤلف من نحو 1200 زوج من الأسس عند التقاء المنطقتين V و C أو قربها. ويجري انتساخ التسلسل المتناثر هذا إلى الرنا (RNA) إلى جانب الجينَين C_L و V_L، ثُمَّ تُنتزَع منه في أثناء المعالجة (Processing) في النواة (الفصلان 39 و 41).



الشكل 38-12 : التبادل بين شقي الكروموسوم المتآخيين للكروموسومات البشرية القابلة للكشف بواسطة تلوين جيمزا لكروموسومات خلايا تَنَسَّخت لدورتين بوجود برومو ديوكسي اليوريدين. وتشير الأسهم إلى بعض مناطق التبادل.

يتم ضبط تخليق الدنا (DNA) وتنَسُّخه وتنظيمهما بدقّة وصرامة:

الوظيفة الأساسية لتَنَسُّخ الدنا (DNA) هي تزويد الذُّرية بالمعلومات الوراثية التي

يملكها الأبوان. ولهذا يجب أن يكون تَنسُّخ الدنا (DNA) تاماً ويُجرى بدقة متناهية للحفاظ على الثبات الوراثي ضمن الكائن الحي والأنواع. وعملية تنسُّخ الدنا (DNA) معقّدة وتتطلب مشاركة الكثير من الوظائف الخلوية وعدة طرائق تَحقُّق لضمان دقتها. ويشترك نحو 30 بروتيناً في تَنَسُّخ كروموسوم الإشريكية القولونية (*E. coli*)، ولا شك بأن هذه العملية أكثر تعقيداً في الكائنات حقيقيات النوى.

وأول الملاحظات الإنزيمية المتعلقة بتَنَسُّخ الدنا (DNA) في الإشريكية القولونية (*E.Coli*) قَدّمها العالم كورنبرج (Kornberg) الذي بيَّن وجود إنزيم في ذلك الكائن الحي يُدعى البوليميراز I (Polymerase I). ولهذا الإنزيم عدة فعاليات تحفيزية وبنية معقّدة، يحتاج إلى ثلاثي فُسفات ديوكسي الريبونوكليوزيدات الأربعة (الأدينين والجوانين والسيتوزين والثيمين). ويعد تفاعل البَلمرة (Polymerization) المُحفَّز ببُوليميراز الدنا I في الإشريكية القولونية *(E.Coli)* نمطاً بدئياً لجميع أنواع بوليميراز الدنا (DNA polymerases) في كل من طليعيات النوى وحقيقياتها؛ ذلك بالرغم من أنه اتضح حالياً بأن الدور الرئيسي لهذا البوليميراز هو إتمامُ تَنسُّخ الطاق المُتَلَكِّئ (Lagging strand).

في جميع الخلايا، لا يمكن أن يحدث التنسخ إلا من مرصاف وحيد الطاق من الدنا (Single-Stranded DNA ssDNA). ولابد من وجود آليات لتحديد موضع بدء التنسخ وفك التفاف (Unwind) الدنا مضاعف الطاق (dsDNA) عند ذاك الموضع ليَتْلُوه تشكل معقد التنسخ (Replication complex). وبعد إتمام التنسخ في منطقة معينة، يكون على الطّاق الأبوي والطّاق الوليد أن يعيدا تشكيل الدنا مضاعف الطاق (dsDNA). ولا بد من خطوة إضافية في حقيقيَّات النوى حيث يجب على dsDNA أن يعيد بدقة تشكيل البنية الكروماتينية، بما فيها الجسيمات النووية، التي كانت موجودة قبل بدء التنسخ. وعلى الرغم من أن هذه العملية غير مفهومة بشكل جيد في حقيقيات النوى، إلا أنها شُرحت بدقة في خلايا طليعيات النوى، ويُعتقد أن المبادئ العامة هي نفسها في الحالتين. وقد أدرجت المراحل الأساسية في (الجدول 38-3) ورسمت في (الشكل 38-12) ونوقشت بالترتيب أدناه. ويساهم عدد من البروتينات، لمعظمها فعالية إنزيمية نوعية، في هذه العملية (الجدول 38-4).

1 – تعيين مناطق بدء (منشأ) التنسخ. 2 – فك (تمسخ أو انحلال) الدنا مضاعف الطاق (dsDNA) لتأمين مرصاف من الدنا مفرد الطاق (ssDNA). 3 – تشكيل شُعب التنسخ. 4 – ابتداء (Initiation) تخليق الدنا (DNA) وتطويله (Elongation). 5 – تشكيل فُقاعات التسخ مع لحم (ربط) شُدف الدنا(DNA) المُخَلَّقَة حديثاً. 6 – استنشاء (Reconstitution) بنية الكروماتين.

الجدول 4-3 : خطوات تنسخ الدنا (DNA) في حقيقيّات النوى.

البروتين	الوظيفة
بوليميراز الدنا	بلمرة ديوكسي النوكليوتيدات.
إنزيمات الهيليكاز	فك الالتفاف (حل) الدنا المتقدم.
إنزيمات الطوبو إيزوميراز	تخفيف الإجهاد الفتلي الناجم عن الحل المحرْض بالهيليكاز
بريماز الدنا	ابتداء تخليق المشرعات الرناويّة.
البروتينات الرابطة للطاق المفرد	منع عودة تشكيل الدنا مضاعف الطاق (dsDNA) المبكّرة.
ليجاز الدنا (الإنزيم رابط الدنا)	سد صدعة **(nick)** الطاق المفرد بين السلسلة الوليدة وشدف أوكازاكي على الطاق المتلكئ.

الجدول 4-4 : صفوف البروتينات المساهمة في التنسخ.

منشأ التنسخ (Origin of replication):

يحدث عند منشأ التنسخ (Ori) ترابط بين البروتينات الرابطة للدنا مضاعف الطاق (dsDNA) النوعية تجاه التسلسل (Sequence specific dsDNA-binding proteins) وبين مجموعة من التكرارات المباشرة لتسلسلات الدنا (DNA).

ففي عاثية الجراثيم λ، يربط λ Ori البروتين O في أربعة مواضع متجاورة. وفي الإشريكية القولونية *(E.Coli)* يربط OriC البروتين dnaA. وفي كلتا الحالتين، يتشكل معقد مؤلف من نحو 150-250 زوجاً من أسس الدنا (DNA) وعديد مواحيد من البروتين الرابط للدنا (DNA). ويؤدي ذلك إلى التَّمَسُّخ الموضعي للدنا (DNA) وفك التفاف (انحلال) منطقة مجاورة غنية بالأدينين والثيمين (A+T). وقد تم التَّعرف على تسلسلات ذاتية التنسخ (Autonomously replicating sequences) لها الوظيفة نفسها في خلايا الخميرة (Yeast) دُعيت اختصاراً ARS. ويحتوي ARS على تتابع مُنحَل نوعاً ما مؤلّف من 11 زوجاً من الأسس يدعى عنصر تنسُّخ المنشأ (Origin replication element "ORE") ويقوم بربط مجموعة من البروتينات المماثلة للبروتين dnaA في الإشريكيَّة القولونية. يُدعى المعقد الناجم عن هذا الارتباط بمعقد تنسخ المنشأ (Origin replication complex "ORC"). ويجاور ORE تسلسلاً مؤلَّفاً من نحو 80 أساساً معظمها من الثيمين والأدينين، ولذلك فهو سهل الانفكاك (الانحلال) ويدعى عنصر حَل (فك) الدنا (DNA Unwinding Element "DUE") وهو منشأ التنسخ في الخميرة.

أما في خلايا الثدييات فلم يجر التعرف على تسلسلات مشابهة لـ Ori أو ARS بنية أو وظيفة. كما لم يجر التعرف على البروتينات التي ترتبط بمثل هذه التَّسلسلات.

حل (أو فك) التفاف الدنا (Unwinding of DNA):

تقوم التآثرات ما بين البروتينات والموضع Ori بتحديد مكان بدء التنسخ وتأمين منطقة قصيرة من الدنا وحيد الطاق (ssDNA) لازمة للبدء بتخليق الطاق الوليد. وتتطلب هذه العملية تشكيل عدد من التآثرات بين البروتينات من جهة وبين

البــروتينات والدنا (DNA) من جــهــة أخــرى. ويقــوم إنزيم هيليكاز الدنا DNA) (Helicase بخطوة حرجة تسمح بفك الالتفاف المتقدم للدنا (DNA)؛ ففي الإشـريكية القولونية (*E.coli*) غير المُصابة بالعاثيات، يؤمن مثل هذه الوظيفة معقد مؤلف من الهيليكاز dnaB والبروتين dnaC، وتقوم البروتينات الرابطة للدنا وحيد الطاق (Single Stranded DNA-Binding Protein "SSBs") بتثبيت هذا المعقد. وأما في الإشريكية القولونية المُنعديّة بالعاثية λ (λPhage)، فيرتبط بروتين العاثية P مع dnaB، ثم يرتبط المعقد P/dnaB مع Ori عن طريق التآثر مع البروتين O. ولا يقوم dnaB بدور الهيليكاز الفعال ما دام ضمن المعقد P/dnaB/O. وتتآزر ثلاثة من بروتينات الصدمة الحرارية (Heat shock) للإشريكية القولونية (dnaK, dnaJ, GrpE) لنزع البروتين P وتنشيط الهيليكاز dnaB. ويقود ذلك، بالتآزر مع SSB، إلى فك التفاف الدنا (DNA) وبدء التنسخ الفعال. وبهذه الطريقة، يجري تنسخُ العاثية λ على حساب تنسخ خلية الإشريكية القولونية (*E.coli*) المضيفة.

تشكيل شعبة التّنسُخ (Replication Fork):

تتألف شعبة التنسخ من أربعة مكونات تتشكل بالتسلسل التالي: (1) يقوم إنزيم هيليكاز الدنا (DNA) بفك التفاف جزء صغير من الدنا (DNA) المضاعف الأبوي؛ (2) ويقوم إنزيم البرَيماز (Primase) بابتداء (Initiate) تخليق جزيئة من الرنا (RNA) ضرورية للشروع في تخليق الدنا (DNA)؛ (3) يقوم بوليميراز الدنا (DNA) بابتداء تخليق الطاق الوليد الحديث؛ (4) ترتبط البروتينات SSBs مع ssDNA، مُعيقة إعادة التشكيل المُبتسر للدنا مضاعف الطاق (dsDNA). ويوضح (الشكل 38-13) المكونات السابقة.

يقوم عميم إنزيم البوليميراز III (Polymerase III holoenzyme) (وهو ناتج الجين dnaE في الإشريكية القولونية) بالارتباط بالدنا (DNA) المرصاف كجزءٍ من معقد عديد البروتينات يتألف من العديد من العوامل المساعدة للبوليميراز (β، γ، δ، δ´ و τ). وتقوم إنزيمات بوليميراز الدنا (DNA) بتخليقه بالاتجاه ´5 إلى ´3 فقط، ويشترك واحد فقط من الأنماط المختلفة العديدة للبوليميراز في شعبة التنسخ. وبما

أن طاقَي الدنا (DNA) متوازيان عكسياً (Antiparallel) (الفصل37)، لذا يعمل البوليميراز بشكل غير متناظر. ففي الطاق الموجه (Leading strand) الذي يسير بالاتجاه الأمامي (Forward) يُخَلَّقُ الدنا (DNA) بشكل مستمر، أما في الطاق المُتَلَكّئ (Lagging strand) التراجعي (Retrograde) فيُخَلَّقُ الدنا (DNA) على شكل شُدف قصيرة (1-5 كيلو أساس) تُدعى شُدف أوكازاكي (Okazaki fragments). ويجب أن يُخَلَّقَ 250 من شُدف أوكازاكي على الأقل لكل شعبة تَنَسُّخ. ولضمان حدوث ذلك، تقوم الهيليكاز بعملها في الطاق المتلكئ بحيث تفك التفاف dsDNA بالاتجاه ´5 إلى ´3 ويرتبط مع البرَيماز (Primase) لتمكين الأخير من الوصول بشكل ملائم إلى المِرصاف. يسمح هذا بإنشاء مَشرَع الرنا (RNA Primer)، كما يسمح للبوليميراز بدورها أن تبدأ تَنَسخ الدنا (DNA).

هذا التتابع للتفاعلات هام لأن بوليميراز الدنا (DNA) لا يستطيع البدء باستحداث الدنا (تخليق الدنا من جديد) (DNA) . ويدعى المعقدُ المتحرك المؤلف من إنزيمي الهيليكاز والبرَيماز باسم الجسيم المُشرَع (البريموزوم: Primosome). ولدى اكتمال اصطناع شُدفة أوكازاكي وتحرُّر البوليميراز، يكون قد جرى تخليق مشرع جديد. ويبقى البوليميراز نفسه مرتبطاً بشعبة التنسخ، ويتابع نحو تخليق شدفة أوكازاكي التالية.

معقد بوليميراز الدنا:

يدخل عدد من جزيئات بوليميراز الدنا المختلفة في تنسخ الدنا (DNA)، وهي تشترك في ثلاث خصائص هامة: (1) تطويل السلسلة (Chain elongation)، (2) التقدم (أو الاستمرارية: Processivity)، و (3) التدقيق (أو التصحيح) (Proofreading). ويعبر تطويل السلسلة عن معدل البَلمرة (عدد النوكليوتيدات في الثانية)؛ وتُعد الاستمرارية تعبيراً عن عدد النوكليوتيدات المضافة إلى السلسلة الوليدة قبل انفصال البوليميراز عن المِرصاف؛ وتحدد وظيفة التدقيق أخطاء التنسخ وتصححها. ففي الإشريكية القولونية يقوم البوليميراز III (Pol III) بوظيفته عند شعبة التنسخ. ومن بين كافة إنزيمات البوليميراز، يحفِّز البوليميراز III أعلى معدل

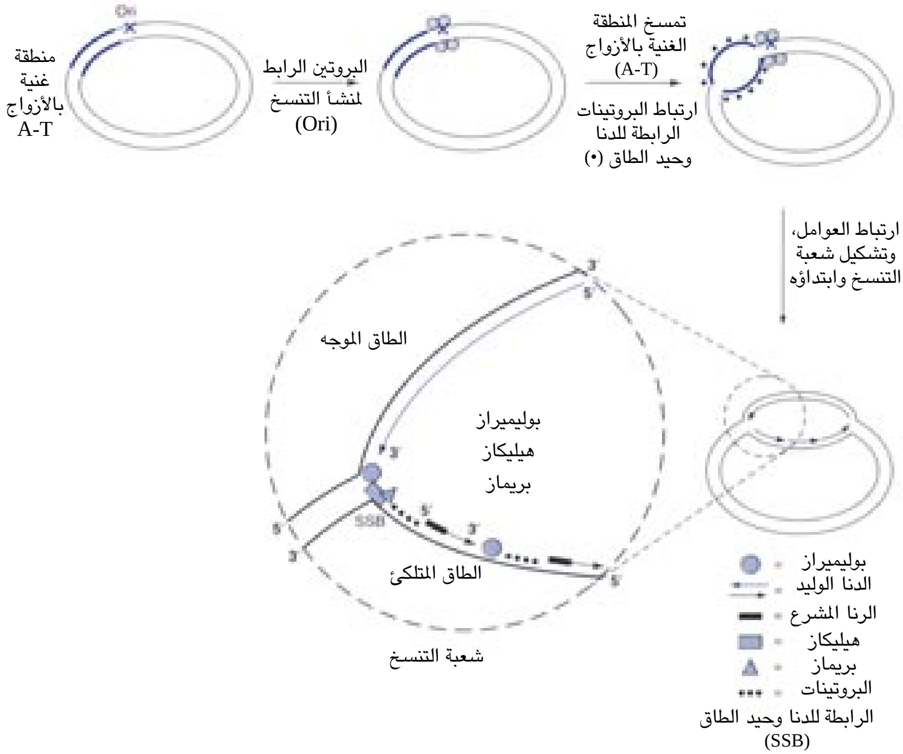
لتطويل السلسلة وهو أكثرها استمرارية، فهو قادر على بَلمرة 0.5 ميجا أساس من الدنا خلال دورة واحدة على الطاق الموجِّه. ويتصفُ البوليميراز III بأنه معقد بروتيني كبير مؤلف من 10 وحيدات، ووزنه أكثر من 1 ميجا دالتون، وهو نتاج التعبير عن الجين dnaE في الإشريكية القولونية. وتطوّق الوحيدتان بيتا المتماثلتان للبوليميراز III مِرصاف الدنا داخل «ملقاط» منزلق يكون مسؤولاً عن تثبيت المعقد وعن الدرجة العالية من الاستمرارية التي يبديها الإنزيم.

يقوم إنزيم البوليميراز II (Pol II) بشكل رئيس بتفحص دقة الدنا وتصليح أخطائه. وأما البوليميراز I (Pol I) فيُكمل تركيب السلسلة بين شُدف أوكازاكي على الطاق المتلكئ. وتتمتع خلايا حقيقيات النوى بوجود مشابهات لكل من هذه الإنزيمات بالإضافة إلى إنزيمات أخرى كما هو مُوَضَّح في (الجدول 58-5).

في خلايا الثدييات، يكون البوليميراز قادراً على بَلمرة 100 نوكليوتيد في الثانية، وهو معدل أقل بعشرة أضعاف من معدل بَلمرة ديوكسي النوكليوتيدات بواسطة معقّد بوليميراز الدنا (DNA) الجرثومية. وقد ينتج هذا المعدل المنخفض عن تداخل الجسيمات النووية التي لا نعلم كيفية تعامل معقد التنسخ معها.

الإشريكية	الثدييات	الظيفة
I	ألفا (α)	ملء الثغرات وتخليق الطاق المتلكئ
II	إيبسلون (ε)	التدقيق في صحة الدنا (DNA) وتصليحه
	بيتا (β)	تصليح الدنا
	جاما (γ)	تخليق دنا (DNA) المتقدرات
III	دلتا (δ)	الاستمرارية، تخليق الطاق الموجه

الجدول 38-5: مقارنة إنزيمات بوليميراز الدنا في طليعيات النوى (الإشريكية القولونية) وحقيقيات النوى (الثدييات)



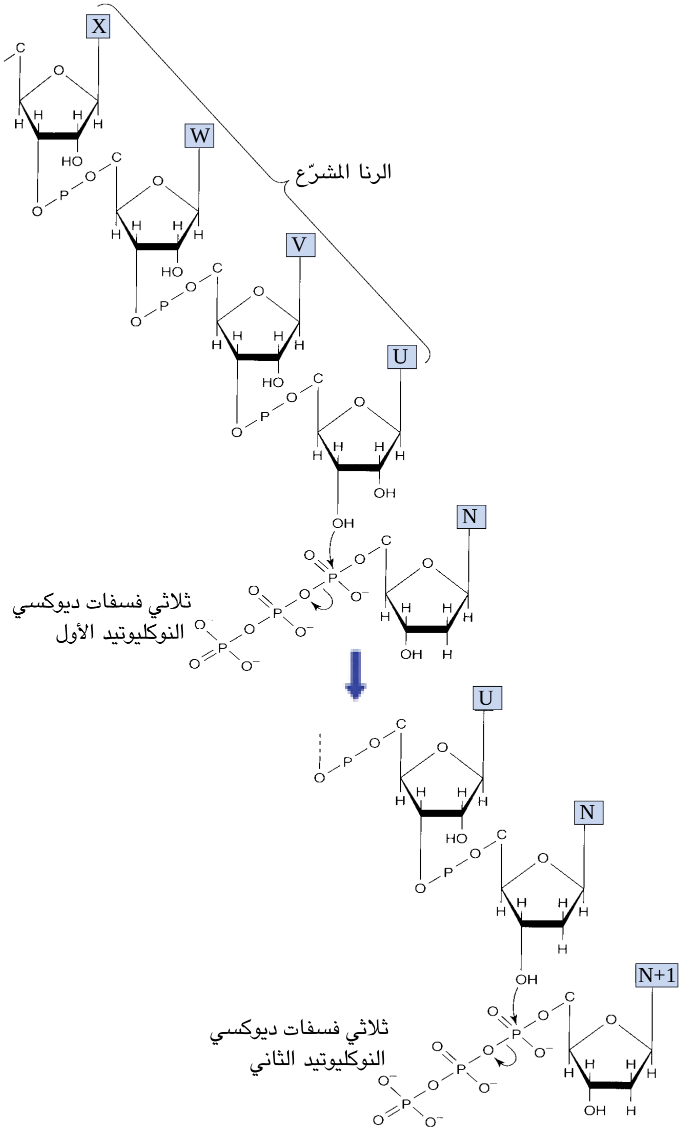
الشكل 13-38 : مراحل تنسخ الدنا (DNA). يوضح هذا الشكل تنسخ الدنا (DNA) في خلية من الإشريكيَّة القولونيَّة، إلا أن الخطوات العامة تكون مماثلة في حقيقيات النوى. ويؤدي التآثر النوعي لبروتين معين (البروتين O) مع منشأ التنسخ (Ori) إلى فك التفاف موضعي للدنا (DNA) في المنطقة المجاورة الغنية بأزواج T+A. ويجري الحفاظُ على الدنا (DNA) في تلك المنطقة على هيئة ذات طاق منفرد (ssDNA) بواسطة البروتينات الرابطة للدنا وحيد الطاق. (SSBs) يسمح هذا للعديد من البروتينات بما فيها الهيليكاز والبرَيماز (Primase) وبوليميراز الدنا (DNA) أن ترتبط وأن تبدأ بتخليق الدنا (DNA). وتتقدَّم شعبة التنسخ بينما يتم تخليق الدنا (DNA) بشكل متواصل (الأسهم المتصلة) في الطاق الموجه، وبشكل غير متصل (الأسهم المتقطِّعة) في الطاق المتلكئ. ويُخَلَّق الدنا الوليد دائماً في الاتجاه ´5 إلى ´3 ، لأن إنزيمات بوليميراز الدنا تستطيع إضافة النوكليوتيد فقط إلى النهاية ´3 من طاق الدنا.

ابتداء تخليق الدنا (DNA) وتطويله:

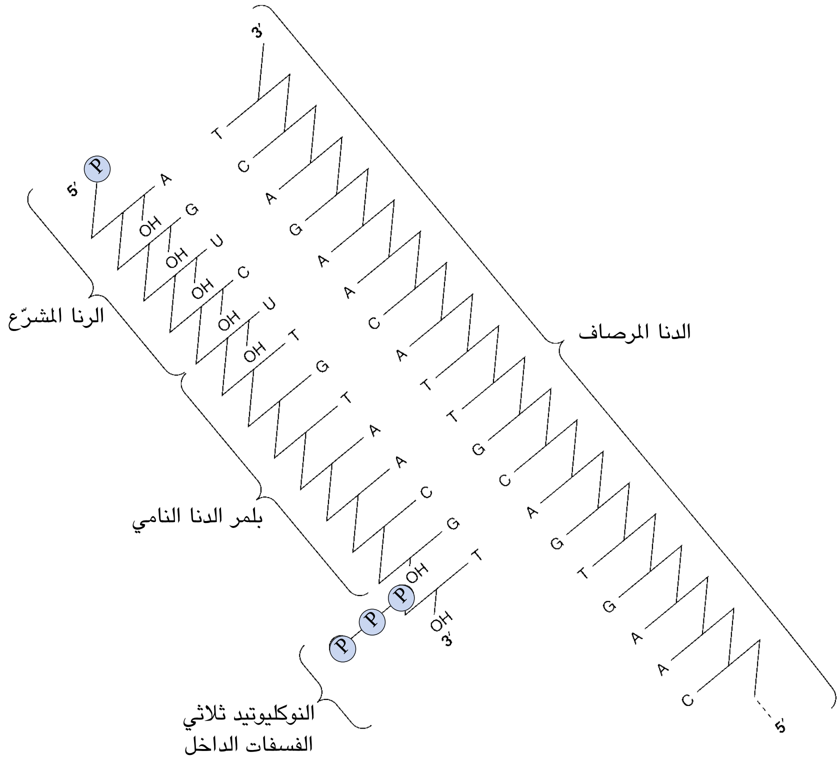
يستلزم ابتداء (Initiation) تخليق الدنا(DNA) (الشكل 38-14) البدء بتخليق امتداد قصير من الرنا (RNA) بطول 10-200 نوكليوتيد تقريباً. وتتضمن عملية الشروع (Priming) هذه هجوماً نيوكليوفيلياً (أليفاً للنواة (Nucleophilic)) للمجموعة الهيدروكسيلية ´3 لمشرع الرنا (RNA Primer) على مجموعة الفسفات ألفا من أول ديوكسي نوكليوزيد ثلاثي الفسفات (N في الشكل 38-14)، ويتحرر البيروفسفات (PPi). وتصبح المجموعة الهيدروكسيلية ´3 من الديوكسي ريبونوكليوزيد أحادي الفسفات المرتبط حديثاً جاهزةً وحرةً عندئذ للقيام بهجوم أليف للنواة (نيوكليوفيلي) على ديوكسي الريبونوكليوزيد ثلاثي الفسفات التالي (1+ N في الشكل 38-14)، على ثمالة الفسفات ألفا أيضاً، مع تحرير البيروفُسفات.

وبطبيعة الحال، فإن اختيار ديوكسي الريبونوكليوتيد الملائم (والذي ستجري مهاجمة مجموعته الطرفية ´3– هيدروكسيل) يعتمد على ازدواج الأسس المناسب مع الطاق الآخر لجزيء الدنا (DNA) حسب القواعد المقترحة أصلاً من قبل واطسون وكريك (الشكل 38-15). فإذا كان هناك أحادي فسفات ديوكسي ريبونوكليوزيد الأدينين في موضع المِرصاف، سيدخل الثيميدين ثلاثي الفسفات وتُهاجم مجموعته الفسفاتية ألفا من قبل مجموعة الهيدروكسيل – ´3 لآخر ديوكسي ريبونوكليوزيد أحادي الفسفات تمت إضافته إلى البَلمر. وبهذه الطريقة، يقوم المِرصاف بإملاء نوع الديوكسي ريبونوكليوزيدات ثلاثية الفسفات المُتَمم له ويثبته في مكانه المناسب عن طريق الارتباط معه (ازدواج) بالروابط الهيدروجينية لتقوم المجموعة الهيدروكسيلية – ´3 للطاق المتنامي بمهاجمة نوكليوتيد جديد وإضافته إلى البَلمر ودمجه معه. ويُطلق على هذه الأجزاء من الدنا (DNA) المرتبطة بالرنا المُبْدِئ (RNA initiator) اسم شُدف أوكازاكي (Okazaki fragments) (الشكل 38-16).

في الثدييات، وبعد تخليق عدة شُدف من شُدف أوكازاكي، يبدأ معقد التنسخ بنزع مشرع الرنا (RNA primer) وملء الثغرات (Gaps) الناجمة عن نزعها بديوكسي النوكليوتيدات الملائمة من ناحية ازدواج الأسس، ثم يقوم أخيراً بلحم أجزاء الدنا (DNA) حديثة التخليق بتواسط إنزيمات يُطلق عليها اسم إنزيمات ليجاز الدنا (DNA ligases).



الشكل 14-38 : ابتداء تخليق الدنا (DNA) على مشرع الرنا (RNA) والارتباط التالي لثلاثي فسفات ديوكسي النوكليوتيد الثاني.



الشكل 38-15 : تخليق الدنا (DNA) المُبتدأ بالرنا (RNA) الذي يوضح وظيفة المِرصاف للطاق المتمم من الدنا (DNA) الأبوي.



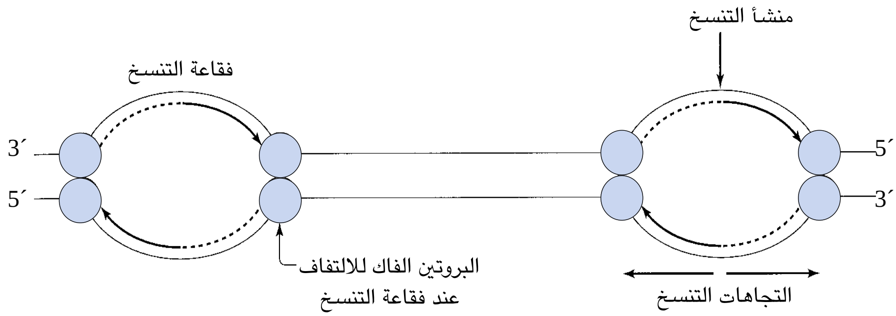
الشكل 38-16 : البلمرة المتقطعة للديوكسي ريبونوكليوتيدات وتشكيل شدف أوكازاكي.

لتنسخ قطبيته:

كما ذكرنا سابقاً، تكون جزيئات الدنا (DNA) مضاعفة الطاق ومتعاكسة التوازي، أي يتقدم الطاقان باتجاهين متعاكسين. ويحدث تنسخ الدنا (DNA) في طليعيات النوى وحقيقياتها في كلا الطاقين بآن واحد؛ إلا أنه لا يوجد في أي كائن حي إنزيم قادر على القيام ببلمرة الدنا (DNA) بالاتجاه ´3 إلى ´5، وبالتالي لا يمكن بأي حال أن ينمو كلا الطّاقين المتنسخين حديثاً بالاتجاه نفسه في الوقت نفسه. ومع ذلك، فإن ذات الإنزيم ينسخ فعلاً كلا الطاقين بآن واحد بحيث يقوم بنسخ طاق (الطاق الموجه (Leading strand)) بصورة مستمرة بالاتجاه ´3 إلى ´5 (بالاتجاه الأمامي العام نفسه)؛ ويقوم بنسخ الطاق الآخر (الطاق المتلكئ (Lagging strand)) بشكل متقطع (غير متواصل) بحيث يقوم ببلمرة النوكليوتيدات بشكل قطع صغيرة مؤلفة من 150-250 نوكليوتيد، وبالاتجاه ´3 إلى ´5 أيضاً، إلا أنه في الوقت نفسه يواجه النهاية الخلفية لمشرع الرنا (RNA primer) بدلاً من أن يواجه الجزء غير المنسوخ. ويوضح (الشكل 38-13) عملية تخليق الدنا (DNA) المتقطع (Semidiscontinuous DNA synthesis). يجري نزع معظم مشارع الرنا (RNA primers) كجزء من عملية التنسخ في المجين النووي للثدييات، لكنها تبقى كجزء من بنية الدنا الحلقية المغلقة بعد تنسخ المجين المتقدري.

تشكيل فقاعات التنسخ:

يتقدم التنسخ من موضع ori وحيد في الكروموسوم الجرثومي الحلقي. ويجري تنسخ مجين الثدييات الكامل خلال 9 ساعات، وهو وسطي الزمن اللازم لتشكيل المجين رباعي الصيغة الكروموسومية (Tetraploid) من المَجين الضعفاني (Diploid) في الخلية المتكاثرة. وهذا يتطلب وجود مناشئ متعددة لتنسخ الدنا (DNA) توجد على شكل تجمعات مؤلفة من أكثر من 100 من الوحدات التنسخية. ويحدث التنسخ في كلا الاتجاهين على طول الكروموسوم ولكلا الطاقين في الوقت ذاته. وتولد عملية التنسخ هذه ما يدعى «فقاعات التنسخ» (Replication bubbles) (الشكل 38-17).



الشكل 38-17 : توليد فقاعات التنسخ أثناء عملية تخليق الدنا (DNA).
ويوضح الشكل التنسخ ثنائي الاتجاه والمواضع المقترحة للبروتينات الفاكة للالتفاف (الناشرة) عند شعب التنسخ.

إن مواضع مناشئ تنسخ الدنا (DNA) العديدة في حقيقيات النوى غير محددة تماماً – عدا تلك الخاصة بعدد قليل من الفيروسات الحيوانية وفي الخميرة (Yeast). ومع هذا، فإنه من الواضح بأن الابتداء منظم فراغياً وزمنياً، حيث أن تجمعات المواضع المتجاورة تبتدئ بشكل متزامن. وهناك مقترحات بأن الحقول الوظيفية من الكروماتين تتنسخ كوحدات كاملة، مما يشير إلى أن مواضع ابتداء التنسخ تتوضع بشكل نوعي بحسب وحدات الانتساخ.

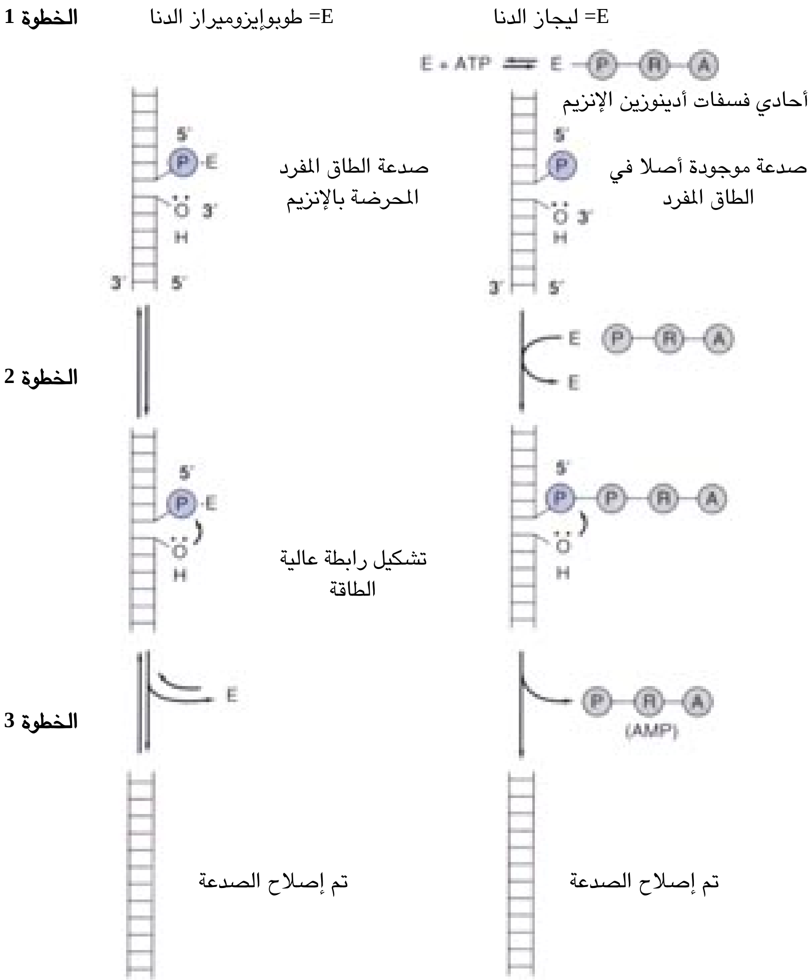
أثناء تنسخ الدنا (DNA) يجب فصل طاقيه ليتمكن كل منهما من أن يقوم بدور مرصاف يشكل روابط هيدروجينية ما بين أسسه النوكليوتيدية وثلاثي فسفات ديوكسي النوكليوزيد القادم. ويحرض انفصال حلزون الدنا (DNA) المضاعف بواسطة البروتينات الرابطة للدنا وحيد الطاق (SSBs) التي هي جزيئات بروتينية نوعية تقوم بتثبيت البنية وحيدة الطاق خلال تقدم شعبة التنسخ.

وترتبط هذه البروتينات التثبيتية ارتباطاً كيميائياً بالطاق المنفرد دون أن تؤثر على قدرة النوكليوتيدات على القيام بدور المراصيف (الشكل 38-13). وبالإضافة إلى فصل طاقي الحلزون المضاعف يجب أن يكون هناك فك لالتفاف الجزيء (مرة كل 10 أزواج نوكليوتيدية) للسماح للطاقين بالانفصال. ويجب أن يحدث ذلك بشكل

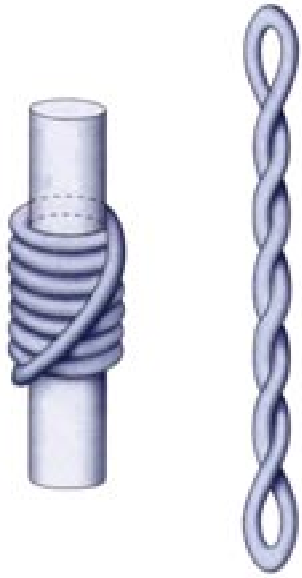
شدف مع الأخذ بعين الاعتبار الوقت الذي يحدث تنسخ الدنا (DNA) خلاله. وهناك «مفاصل أو وصلات فَتالة»[1] (Swivels) متعددة ومبعثرة في جزيئات الدنا (DNA) في جميع الكائنات الحي؛ ويؤمن وظيفة هذه المفاصلِ إنزيمات نوعية تقوم بإدخال «صدعات» (Nicks) في طاق واحد من الحلزون المضاعف غير الملتف سامحة لعملية فك الالتفاف بالتقدم. وسرعان ما يعاد لحَم (سد) الصدعات دون أن يتطلب ذلك صرف طاقة بسبب تشكيل رابطة تساهميَّة عالية الطاقة ما بين الهيكل الفُسفودَايستري المَصدوع والإنزيم الصادع ـ اللاحم (الساد) (Nicking-sealing enzyme). وتدعى هذه الإنزيمات باسم المصاوغات التوضعية للدنا (طوبوإيزوميرازات الدنا) (DNA topoisomerases) ويحوي (الشكل 38-18) مخططاً يوضح العملية السابقة ويقارنها مع إعادة الالتحام المعتمدة على الدنا (DNA) الذي تقوم به إنزيمات ليجاز الدنا (DNA-ligases) (DNA). ويستطيع الطوبوإيزوميراز أيضاً فك التفاف الدنا (DNA) فائق الالتفاف. والدنا (DNA) الفائق الالتفاف هو بنية عالية الترتيب تظهر في جزيئات الدنا (DNA) الحلقية التي تلتف حول لب ما كما هو مبين في (الشكل 38 -19).

يوجد في أحد أنواع الڤيروسات الحيوانية (الڤيروسات القهقرية (Retroviruses)) صف من الإنزيمات القادرة على تخليق طاق منفرد ثم طاق مضاعف لجزيء الدنا (DNA) من مِرصاف الرنا (RNA) وحيد الطاق. يسمى هذا الإنزيم بوليميراز الدنا (DNA) المعتمد على الرنا (RNA-dependent DNA polymerase) أو «المنتسخة العكسية» "Reverse transcriptase"، ويقوم أولاً بتخليق الجزيء الهجين (DNA-RNA) مستخدماً مجين الرنا (RNA) كمرصاف ثم يقوم إنزيم نوعي هو الرناز H (RNase H) بتقويض طاق الرنا (RNA). بعد ذلك، يقوم طاق الدنا (DNA) المتبقي بدوره كمرصاف لتشكيل جزيء دنا (DNA) مضاعف الطاق يحتوي على المعلومات التي كانت موجودة أصلاً في مجين الرنا (RNA). للڤيروس الحيواني.

1 – *وصلة بين جزأين تمكن أحدهما فقط من الدوران بحرية وكأنه يدور على حامل (المترجم).*



الشكل 18-38 : مقارنة بين نمطين من تفاعلات لحم (سد) الصدع (Nick-sealing) في الدنا (DNA). يحفز سلسلة التفاعلات المبينة إلى اليسار إنزيم طوبوإيزوميراز الدنا، ويحفز تلك التي في اليمين ليجاز الدنا (DNA-ligase).



الشكل 19-38 : الالتفاف الفائق للدنا (DNA) يتحول الالتفاف الفائق ذو العُقدة واليساري الاتجاه (الالتفاف اللولبي) (في اليسار) إلى التفاف فائق يميني التوجه وداخلي الالتفاف (في اليمين) لدى انتزاع اللب الأسطواني. ويشابه هذا التحول ذلك الذي يحدث لدى تخريب الجسيمات النووية عن طريق استخلاص الهيستون من الكروماتين بواسطة تركيز ملحي عال.

استنشاء (إعادة تركيب) بنية الكروماتين:

هناك دليل على أن الترتيب النووي وبنية الكروماتين يشتركان في تحديد تنظيم تخليق الدنا (DNA) وابتدائه. وكما ذكر سابقاً، يكون معدل البلمرة في خلايا حقيقيات النوى التي تحتوي على الكروماتين والجسيمات النووية أقل بعشرة أضعاف مما هو عليه في طليعيات النوى التي لديها دنا (DNA) عارياً. كما أن من الواضح أنه يجب أن يعاد تشكيل بنية الكروماتين بعد التنسخ. وسرعان ما تجتمع نسخة الدنا (DNA) الجديد في جسيمات نووية وتتوزع مثامين (Octamers) الهيستونات الموجودة أصلاً والمتشكلة حديثاً بشكل عشوائي بين ذراعي شعبة التنسخ.

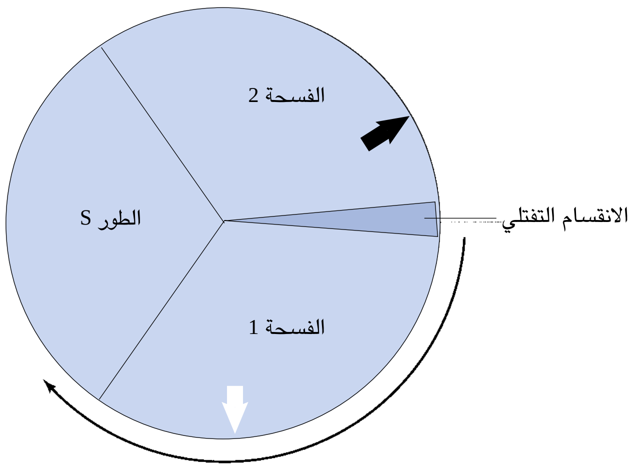
يجـــرى تخليـق الدنا (DNA) خـــلال الطور الـتــخـليــقي (S) من الدورة الخلوية:

يحدث تنسخ مجين الدنا(DNA) في الخلايا الحيوانية، بما فيها خلايا الإنسان، في فترة زمنية معينة من حياة الخلية يُطلق عليها اسم «الطور التخليقي» (التركيبي) (Synthetic phase) أو الطور S (S phase) الذي ينفصل زمانياً عن الطور التفتلي (Mitotic) بفترتين غير تخليقيتين يطلق عليهما اسم الفسحة 1 أو الثغرة 1 (Gap 1) (G1) والفسحة 2 (G2) (Gap 2) تحدثان قبل الطور S وبعده على الترتيب (الشكل 38-20). وبالإضافة إلى الأشياء الأخرى، تحضر الخلية نفسها خلال الفسحة 1 لتخليق الدنا (DNA) وخلال الفسحة 2 للانقسام التفتلي. كما تقوم الخلية بتنظيم تخليق الدنا (DNA) فيها بشكل صارم عن طريق السماح له بالحدوث في أوقات محددة فقط، وغالباً في خلايا تستعد للانقسام التفتلي (Mitotic).

يبدو أنه توجد في جميع خلايا حقيقيات النوى نواتج جينية تتحكم بالانتقال من طور إلى آخر في الدورة الخلوية. و«البروتينات الدورية» أو السكلينات (Cyclins) هي مجموعة من البروتينات يرتفع وينخفض تركيزها خلال الدورة الخلوية، ومن هنا جاء اسمها. وتقوم السكلينات في الوقت الملائم بتشغيل إنزيمات كيناز البروتين المعتمدة على السكلين (Cyclin-Dependent Protein Kinases "CDKs") التي تعمل على فسفرة الركائز الضرورية للتقدم في الدورة الخلوية؛ فعلى سبيل المثال، ترتفع مستويات السكلين D (Cyclin D) في أواخر الطور G1 وتسمح بالتقدم إلى ما بعد نقطة البدء (Start point) (في الخميرة) أو نقطة التقييد Restriction Point (في الثدييات)، وهي النقطة التي إذا تجاوزتها الخلية ستدخل بلا عودة إلى الطور S أو طور تخليق الدنا (DNA).

وينشط السكلين D كلاً من CDK_4 وCDK_6. ويخلق هذان الإنزيمان أيضاً خلال الطور G1 في الخلايا التي تكون بحالة انقسام نشط. ويتجمع السكلين D و CDK_4 و CDK_6 ، وهي بروتينات نووية، في أواخر الطور G1 على شكل معقد تنشط فيه وظيفة كيناز البروتين النوعي للسيرين والثريونين (Serine-threonine protein

kinase). وأحد ركائز هذه الكيناز هو بروتين ورم أرومة الشبكية (البروتين Rb (Retinoblastoma protein "Rb") الذي يعد منظماً لدورة الخلية لأنه يرتبط مع عامل الانتساخ (E_2F) ويثبطه. هذا العامل ضروري لانتساخ الجينات والتقدم من الطور G1إلى الطور S. وتؤدي فسفتة Rb بواسطة CDK_4 أو CDK_6 إلى تحريرE_2F منه، وتنشيط الجينات (كالجين المرمزة لمختزلة ثنائي هيدرو الفولات)، وتقدم الدورة الخلوية.



الشكل 38-20 : دورة الخلية في الثدييات. ينفصل طور تخليق الدنا (DNA) الطور S) عن الانقسام التفتلي بالفسحتين 1 (G1) و 2 (G2). ويشير السهم خارج الدائرة إلى اتجاه تقدم الدورة الخلوية. كما يشير رأس السهم الفارغ إلى نقطة البدء (الخميرة) أو النقطة الحرجة (نقطة التقييد) (الثدييات) التي تؤثر فيها كل من CDK4 و CDK6 بعد تنشيطها بواسطة السكلين D. وتؤدي هذه الكيناز البروتينية إلى إيقاف التثبيط، الذي ربما يمارسه ناتج الجين Rb، فتتابع الخلية تقدمها خلال الدورة. ويشير رأس السهم المغلق إلى وقت وصول مستويات معقد السيكلين B/CDK1 إلى الذروة؛ وهذا ما يسمح للخلية بأن تخضع للانقسام التفتلي.

هناك سكلينات أخرى وكينازات معتمدة عليها (CDK) تقوم بأدوار مختلفة فيما يخص تقدم الدورة الخلوية (الجدول 38-6). فالسِّكْلين E (cyclin E) والكيناز CDK_2 يشكلان معقداً في أواخر الطور G1، وسرعان ما يتدرك السكلين E ويقوم CDK_2 المتحرر بتشكيل معقد مع السِّكْلين A. هذا التتابع ضروري من أجل ابتداء تخليق الدنا (DNA) في الطور S. ومن ناحية أخرى، يشكل المعقّد المكون من السكلين B والكيناز CDK_1 عاملاً محدداً لمعدل الانتقال من الطور G2 إلى الطور M في خلايا حقيقيات النوى.

تملك الكثير من الڤيروسات المسببة للسرطان (الڤيروسات الورمية (Oncoviruses)) والجينات الورمية (Oncogenes) القدرة على رفع القيد الظاهري الذي يضبط ادة دخول خلايا الثدييات من G1 إلى الطور S أو الإخلال به. ويمكن للمرء أن يستنتج مما عرضناه أعلاه أن الإنتاج الفائض لسكلين ما أو إنتاجه في وقت غير ملائم قد يؤدي إلى انقسام خلوي شاذ أو غير محدود. ومن الجدير بالذكر في هذا المجال أنه يبدو أن الجين الورمي *bcl* المرافق للورم اللمفي للخلايا البائية (B cell lymphoma) هو جين السكلين *D1*.

تحتوي خلايا الثدييات في أثناء الطور S على كميات من بوليميراز الدنا (DNA) أكبر مما تحتويه في الأطوار غير التخليقية من دورة الخلية. وبالإضافة إلى ذلك، تزداد فعالية الإنزيمات المسؤولة عن تشكيل ركائز تخليق الدنا، أي ثلاثي فسفات ديوكسي الريبونوكليوزيدات؛ وتتناقص فعاليتها بعد ذلك إلى أن تظهر من جديد إشارة تخليق لدنا (DNA) جديد. ويجري تنسخ كامل الدنا (DNA) النووي خلال الطور S لمرة واحدة وواحدة فقط. ويبدو أنه لدى نسخ الكروماتين، فإنه يوصم بحيث يمنع تنسخه لمرة ثانية إلى أن يجتاز ثانية الطور التفتلي. وقد اقترح العلماء أن مثيلة الدنا (DNA) قد تقوم بدور الواصم.

يجري، بشكل عام، تنسخ زوج معين من الكروموسومات بآن واحد وضمن جزء ثابت من الطور S عند كل تنسخ. ويجري تنسخ مجموعة وحدات التنسخ على الكروموسوم بشكل متناسق. وما تزال طبيعة الإشارات التي تنظم تخليق الدنا (DNA) عند هذه المستويات غير معروفة، لكن التنظيم خاصية متعلقة بكل كروموسوم على حدة على ما يبدو.

السكلين	الكيناز	الوظيفة
D	CDK_6 و CDK_4	التقدم بعد نقطة التقييد عند الحد G1/S
E و A	CDK_2	ابتداء تركيب الدنا في بداية الطور S
B	CDK_1	الانتقال من G2 إلى M

الجدول 6-38 : السكلينات والكينازات المعتمدة عليها ودورها في تقدم الدورة الخلوية.

تقوم الإنزيمات بتصليح (Repair) الدنا (DNA) المتأذي:

إن المحافظة على سلامة المعلومات في جزيئات الدنا (DNA) هي أمر في غاية الأهميــة من أجل بقاء الكائن الحي، وكـذلك من أجل بقـاء الأنواع. ولهـذا، يمكن الاستنتاج بأن الكائنات الباقية طورت آليات لتصليح أو ترميم عيوب الدنا (DNA) التي تنجم إما عن أخطاء في التنسخ أو عن أذيات من البيئة المحيطة.

كما ذكرنا في (الفصل 37)، تكمن المسؤولية الرئيسية عن دقة التنسخ في الازداوج (Pairing) النوعي للأسس النوكليوتيدية.

ويعتمد الازداوج الملائم على وجود الأشكال الصنوية (Tautomers) الملائمة للنوكليوتيدات البورينية والبَيريميدينية، لكن التوازن الذي يكون فيه أحد الأشكال الصنوية أكثر ثباتاً من شكله الآخر هو نحو 10^4 - 10^5 في صالح الشكل الأكثر ثباتاً. وبالرغم من أن هذا ليس كافياً لضمان الدقة العالية المطلوبة، إلا أن اختيار الأشكال الصنوية المفضلة، ومن ثم الشكل الملائم لازدواج الأسس، يتحقق منه برصد أو مراقبة ازدواج الأسس مرتين. ويحدث هذا الرصد المزدوج فعلاً في كلا الجملتين الجرثومية والثديية فيحدث أولاً عند غرز أو إقحام (Insertion) ديوكسي الريبونوكليوزيد ثلاثي الفسفات، وثانياً بآلية متابعة لاحقة متطلبة للطاقة تقوم بانتزاع جميع الأسس غير الملائمة التي قد توجد في الطاق المتشكل حديثاً. ولا

يسمح هذا الرصد المضاعف بحدوث أخطاء في ازدواج الأسس بسبب وجود الأشكال الصنوية غير المفضلة إلا بتواتر لا يزيد عن مرة واحدة كل 10^8 - 10^{10} زوج من الأسس. وتتضمن الآلية المسؤولة عن آلية الرصد هذه في الإشريكية القولونية *(E.coli)* فعاليات النوكلياز الخارجية 3´ إلى 5´ لإحدى وحيدات معقد البوليميراز III (Pol III) وجزيء البوليميراز I (Pol I) ؛ إلا أنه لا يبدو أن بوليميرازات الدنا المضاهئة (ألفا ودلتا) في الثدييات تمتلك مثل هذه الوظيفة النوكليازية المدققة، بل توجد إنزيمات أخرى تقوم بوظيفة التصليح هذه.

تؤدي أخطاء التنسخ، حتى بوجود جملة تصليح (ترميم) فعالة جداً، إلى تراكم الطفرات؛ فجسم الإنسان يحوي نحو 10^{14} خلية منواة و 3×10^9 زوج أسس في كل خلية؛ وإذا حدث 10^6 انقسام خلوي خلال الحياة، واستطاعت 10^{-10} طفرة لكل زوج أسس في كل جيل من الخلايا أن تهرب من التصليح، فإنه يمكن أخيراً أن توجد طفرة واحدة لكل 10^6 من الأسس في المجين. ولكن، ولحسن الحظ، تحدث معظم تلك الطفرات غالباً في دنا (DNA) لا يرمز لبروتينات أو أنها لا تؤثر في وظيفة البروتينات المرمزة، لذا لا يكون لها نتائج ضارة. وبالإضافة إلى ذلك، فإن الأضرار المُحدَثة كيميائياً أو تلقائياً في الدنا (DNA) يجب أن ترمم.

ويمكن تصنيف أذيات الدنا (DNA) الناجمة عن عوامل بيئية وفيزيائية وكيميائية إلى أربعة أنماط (الجدول 38-7). ويجري استبدال المناطق الشاذة من الدنا (DNA) الناجمة إما عن أخطاء النسخ أو تأذي الدنا (DNA) بأربع آليات: (1) تصليح سوء الازدواج (أو الازدواج غير الملائم) (Mismatch repair)؛ (2) واستئصال ـ تصليح الأساس (Base excision-repair)؛ (3) واستئصال ـ تصليح النوكليوتيد (Nucleotide excision-repair)؛ (4) وتصليح الكسر مضاعف الطاق (Double-strand break repair) (الجدول 38-8). وتستثمر هذه الآليات وفرة المعلومات المتأصلة في بنية الدنا (DNA) الحلزونية المضاعفة بحيث يمكن أن تُعاد المنطقة الشاذة في أحد الطاقين إلى شكلها الأصلي بالاعتماد على المعلومات المتممة المخزونة في الطاق الآخر السليم غير المتأذي.

1 – تَغيُّر أساس مفرد:

أ – نزع البورين.

ب – نزع أمين السيتوزين وتحوله إلى اليوراسيل.

جـ – نزع أمين الأدنين وتحوله إلى الهيبوزانثين.

د – ألْكَلَة (Alkylation) الأساس.

هـ – غرس أو خَبْن النوكليوتيد.

و – تضمين (Incorporation) أحد مضاهئات الأساس.

2 – تغير أساسين :

أ – مَثنوي (Dimer) الثيمين ـ ثيمين المحرض بالضوء فوق البنفسجي (UV light).

ب – ارتباط ـ تصالبي بعامل ألْكلة ثنائي الوظيفة.

3 – تَكسُّر أو انفصام السلاسل:

أ – الإشعاع المُؤَيِّن.

ب – تفتُّت (تفسخ: Disintegration) إشعاعي لأحد عناصر الهيكل.

جـ – تَشكُّل الجذور الحرة الأكسدية.

4 – الارتباط التصالبي:

أ – بين الأسس في نفس الطاق أو في الطيقان المتعاكسة.

ب – بين الدنا وجزيئات البروتين (كالهيستونات).

الجدول 7-38 : أنماط أذية الدنا .

الآلية	المشكلة	الحل
تصليح سوء الازدواج	خطأ في النسخ [أساس واحد أو وشائع غير مزدوجة (2-5 أساس)]	قطع الطاق بتوجيه الميثيل والهضم بنوكلياز خارجية والاستبدال
استئصال – تصليح الأساس	أذية تلقائية أو كيميائية أو تشعيعية لأساس واحد	نزع الأساس بالجليكوزيلاز – N ثم نزع السكر منزوع الأساس ثم الاستبدال
استئصال ـ تصليح النوكليوتيد	أذية تلقائية أو كيميائية أو تشعيعية لشُدفة دنا (DNA segment).	نزع قليل نوكليوتيد (نحو 30 نوكليوتيد) واستبداله
تصليح الكسر مضاعف الطاق	الإشعاع المؤيِّن، المعالجة الكيميائية الجسور الحرة الأكسدية	تشابك ، فَكّ التفاف، تَرصيف، ربط

الجدول 38-8 : آلية تصليح الدنا.

تصليح سوء الازدواج (الازدواج غير الملائم):

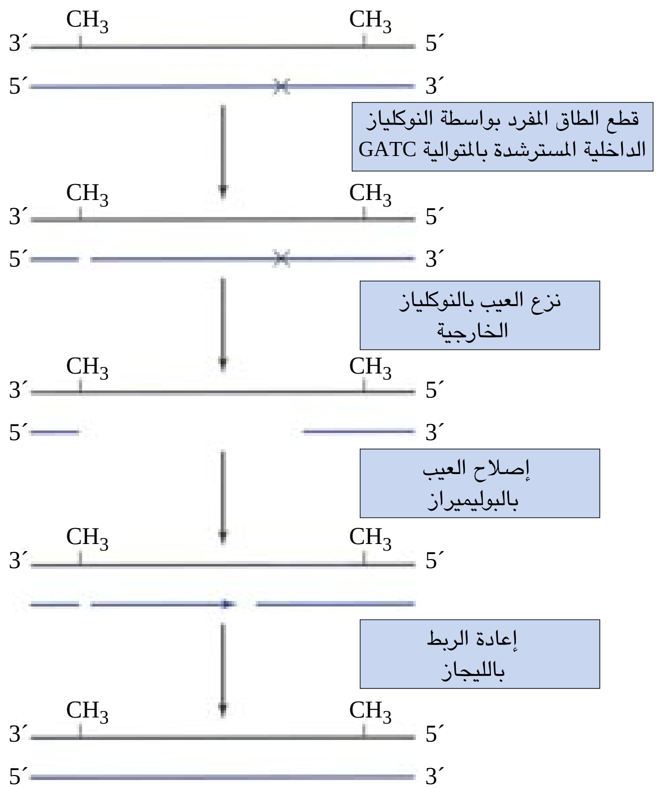
تصحح هذه الآلية الأخطاء الحاصلة خلال نسخ الدنا (DNA)؛ فمثلاً، يمكن أن نغرز C مقابل A، أو يمكن للبوليميراز أن ينزلق مؤدياً إلى إدخال أساسين إلى خمسة أسس إضافية غير مزدوجة.

تقوم بروتينات نوعية بعملية مسح أو تفرس (Scan) الدنا (DNA) حديث التخليق مستخدمة مثيلة الأدينين ضمن المتوالية \3 - G ATC - \5 كنقطة مرجعية (الشكل 38-21)؛ حيث أن طاق الدنا المرصاف ممثيل أما المخلق حديثاً فلا، مما يسمح لإنزيمات التصليح بتمييز الطاق الذي يحوي النوكليوتيد الخطأ الذي يجب استبداله. فإذا وجد ازدواج غير ملائم أو وجدت عروة (Loop) صغيرة، يقوم عندئذ إنزيم النوكلياز الداخلية المسترشدة بالمتوالية GATC (GATC endonuclease) بقطع الطاق الذي يحمل الطفرة في موضع موافق لـ GATC؛ ثم يقوم إنزيم النوكلياز

الخارجية (Exonuclease) بهضم ذلك الطاق ابتداء من المتوالية GATC مروراً بالطفرة، مزيلاً بذلك الدنا (DNA) الشاذ. ويمكن أن يحدث هذا من كلا الجانبين فيما إذا وقع الخلل ما بين موقعي GATC. وبعد ذلك، يملأ المكان الخاطئ أو العيب بواسطة إنزيمات خلوية طبيعية وفقاً لقواعد ازدواج الأسس. ويوجد في الإشريكية القولونية ثلاثة بروتينات (Mut S وMut C و Mut H) مطلوبة للتّعرف على الطفرات وانفصام الطاق. وتقوم إنزيمات خلوية أخرى بما فيها الليجاز (Ligase) والبوليميراز والبروتينات الرابطة للطاق المنفرد (SSBs) بانتزاع الطاق واستبداله؛ وتكون هذه العملية أكثر تعقيداً إلى حد ما في خلايا الثدييات، حيث أن هناك ستة بروتينات تقوم بالاشتراك في الخطوات الأولى.

لقد تم الربط ما بين الخلل في آلية تصليح سوء الازدواج وبين سرطان القولون الوراثي غير السليلي (Hereditary nonpolyposis colon cancer "HNPCC")، أحد أكثر أنواع السرطانات الوراثية شيوعاً. وقد ربطت الدراسات الوراثية بين HNPCC ومنطقة في الكروموسوم 2 لدى بعض العائلات. وقد جرى التعرف بعد ذلك على الجين في ذلك الموضع، ودعي *hMSH2*. وتبين أنه المضاهئ البشري للبروتين Mut S الخاص بالإشريكية القولونية،الذي يساهم في عملية تصليح سوء الازدواج (انظر آنفاً). وقد وجد أن الطفرات في *hMSH2* مسؤولة عن 50-60 ٪ من حالات السرطان من نوع HNPCC. وهناك جين آخر *(hMLH1)* يرتبط مع معظم الحالات الأخرى، وهو المضاهئ البشري للجين الجرثومي المرمم للازدواج غير الملائم (Mut L).

كيف يؤدي الخلل في تصليح الازدواج غير الملائم إلى حدوث سرطان القولون؟ لقد جرى تحديد موضع الجينات لأنه جرى الكشف عن عدم استقرار ميكروساتلي، أي أن خلايا السرطان كانت تملك ميكروساتلية مختلفة الطول عن تلك التي وجدت في الخلايا السوية للفرد. ومن الواضح أن الخلايا المتأثرة، والتي تحمل إنزيماً طافراً من إنزيمات تصليح الازدواج غير الملائم (*hMSH2* أو *hMLS1*)، لم تكن قادرة على نزع العرى أو الوشائع الصغيرة غير المزدوجة من الدنا (DNA) مما أدى إلى زيادة حجم الميكروساتلية. وهذا لابدَّ أن يؤثر في وظيفة البروتين الذي هو أساسي لمراقبة دورة الخلية في خلايا القولون هذه.



الشكل 38-21 : إصلاح الازدواج غير الملائم في الدنا (DNA). تصحح هذه الآلية التزاوج غير الملائم لزوج وحيد من الأسس (مثلاً C و A بدلاً من T و A) أو جزءاً قصيراً من الدنا (DNA) غير المتزاوج. وتقوم النوكلياز الداخلية بالتعرف على المنطقة المَعيبة وتحدث قطعاً في الطاق المنفرد ضمن التسلسل GATC المثيل المجاور؛ ثم ينتزع طاق الدنا (DNA) عبر الطفرة ويُستبدل ويُعاد ربطه.

استئصال ـ تصليح الأساس:

يحدث نزع بورينات الدنا (DNA) ـ والذي قد يكون تلقائياً بسبب عدم الثبات الحراري للربطة الجليكوزيدية للبورين ـ بمعدل 5,000-10,000 مرة/الخلية/اليوم في

الدرجة 37°م. وتتعرف إنزيمات نوعية على المواضع منزوعة البورين هذه، وتستبدل البورين بآخر ملائم مباشرة دون الإخلال بالسلسلة الفسفودايسترية.

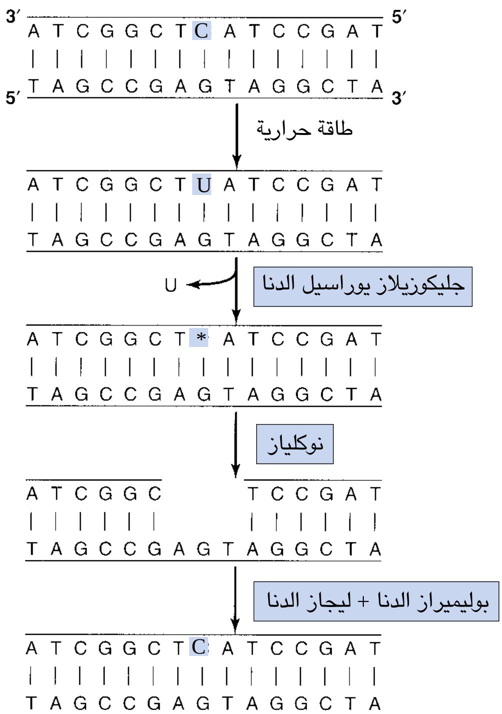
يحدث نزع الأمين التلقائي من أسس السيتوزين والأدينين والجوانين في الدنا (DNA) مؤدياً إلى تشكيل اليوراسيل والهيبوزانثين والزانثين، على الترتيب. وبما أن الدنا لا يحوي في الحالة السوية أيّاً من هذه الأسس الناتجة، فإنه من غير المستغرب أن تميز إنزيمات نوعية (إنزيمات الجليكوزيلاز *N*– "*N* - glycosylase") تلك الأسس الشاذة، وتنتزعها من الدنا (DNA). ويوصم، بهذه الطريقة، مكان العيب مما يسمح لإنزيم النوكلياز الداخلية النازع للبورين أو البيريميدين (Apurinic or apyrimidinic endonucleases) باستئصال السكر غير المرتبط بأساس. يلي ذلك إقحام الأساس المناسب بواسطة بوليميراز تصليح الدنا (Repair DNA Polymerase)، ثم يقوم إنزيم الليجاز (Ligase) بإعادة الدنا (DNA) إلى وضعه الأصلي (الشكل 38-22). وتُدعى هذه السلسلة من التفاعلات: استئصال ـ تصليح الأساس أو ترميم الأساس المستأصل. وبتتابع الخطوات السابقة نفسها التي تتضمن بشكل أولي التعرف على العيب، يمكن انتزاع الأسس المؤلكلة (Alkylated) ومضاهئات الأسس من الدنا (DNA) وإعادته إلى محتواه الأصلي من المعلومات.

هذه الآلية ملائمة لاستبدال أساس منفرد، إلا أنها غير فعالة في استبدال مناطق متأذية من الدنا (DNA).

استئصال ـ تصليح النوكليوتيد (ترميم النوكليوتيد المستأصل):

تستخدم هذه الآلية لاستبدال مناطق من الدنا (DNA) المتأذي بطول حتى ثلاثين أساساً. وتضم الأمثلة الشائعة على تأذي الدنا (DNA) الضوء فوق البنفسجي (UV) الذي يحرض تشكيل مثنويات من البوتان الحلقي بيريميدين ـ بيريميدين (Cyclobutane pyrimidine-pyrimidine)، وكذلك التدخين الذي يؤدي إلى تشكيل معقدات إضافية (Adducts) للبنزوبيرين ـ جوانين. كما يؤدي الإشعاع المؤين ومواد

العلاج الكيميائي للسرطان والأنواع العديدة من الكيماويات الموجودة في البيئة إلى تحويرات في الأسس وكسر للطيقان والاتباط المتصالب ما بين الأسس في الطيقان المتعاكسة أو ما بين الدنا (DNA) والبروتين والعديد من الشذوذات الأخرى.



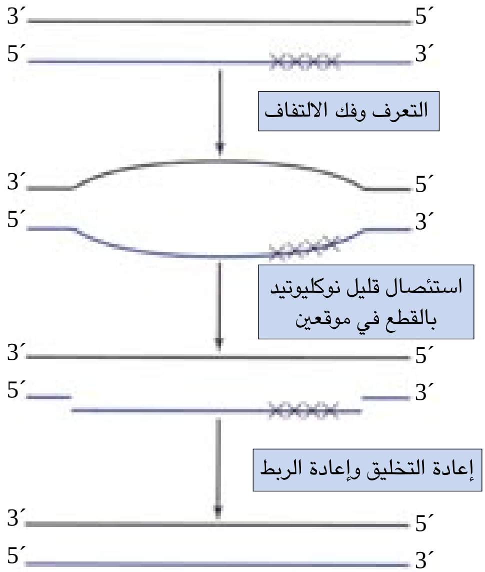
الشكل 38-22 : استئصال ـ إصلاح الأساس في الدنا (DNA). يقوم إنزيم جليكوزيلاز يوراسيل الدنا (DNA) باستئصال اليوراسيل الذي نتج عن نزع الأمين التلقائي من السيتوزين في الدنا (DNA)؛ وتقوم نوكلياز داخلية بكسر السلسلة بالقرب من العيب، ثم ـ بعد نزع القليل من الأسس ـ يملأ مكان العيب بواسطة بوليميراز مرممة، ويربط الطاق بواسطة الليجاز.

ترمم الحالات السابقة بطريقة تدعى استئصال ـ تصليح النوكليوتيد أو «ترميم النوكليوتيد المستأصل» (الشكل 38-23). إن هذه الطريقةَ المعقدة، والتي تضم نواتج جينية أكثر من تلك التي يضمها نمطا التصليح السابقان، تتضمن بشكل عام حلمهة رابطتين من الروابط الفُسفودايسترية في الطاق الذي يحتوي على العيب. وتؤدي هذه المهمة نوكلياز استئصال خاصة (Exinuclease) تتألف من ثلاث وحيدات على الأقل في الإشريكيّة القولونية و 17 عديد ببتيد في الإنسان.

تقوم الإنزيمات بإجراء هذا الاقتطاع عند الرابطة الفسفودايسترية بين الثالثة والخامسة بعد موقع الخلل من الجهة 3´، أما قبله (من الجهة 5´) فيجري الاقتطاع في مكان ما بين الرابطتين الواحدة والعشرين والخامسة والعشرين. وهذا يعني أنه يتم استئصال شدفة من الدنا (DNA) طولها يتراوح بين 27 و 29 نوكليوتيداً.

وبعد انتزاع الطاق، يجري استبداله بآخر مناسب معتمدين على ازدواج الأسس الدقيق، ويقوم بهذه المهمة بوليميراز آخر (δ/ε في الإنسان). يتم أخيراً ربط النهايات مع الطيقان الموجودة أصلاً بواسطة ليجاز الدنا.

جفاف الجلد المصطبغ (Xeroderma pigmentosum) واختصاره (XP) هو أحد الأمراض الوراثية الناجمة عن وراثة كروموسومية جسدية متنحية (انظر الحالة رقم 1 في الفصل 65)؛ وتتضمن الأعراض السريرية حساسية زائدة لضوء الشمس (فوق البنفسجي) مع تشكل لاحق لسرطانات جلدية متعددة ثم الموت المبكر. ويزداد خطر حدوث سرطان الجلد 1000-2000 ضعف. ويبدو أن العيب الوراثي يتضمن تصليح الدنا (DNA) المتضرر (خاصة مثنويات الثيمين)؛ حيث تظهر الخلايا المزروعة من المرضى المصابين بهذا الداء فعالية منخفضة لعملية ترميم النوكليوتيد المستأصل. وقد تم التعرف على سبع مجموعات تتميمية باستخدام تحليل الخلية الهجينة، لذلك هناك على الأقل سبعة نواتج جينية مساهمة (رمز لها بالأحرف من XPA إلى XPG)؛ يساهم اثنان منهما (XPA و XPC) في التعرف والاستئصال. أما XPB و XPD فهي إنزيمات هيليكاز (Helicase)، ومن اللافت للنظر أنها وحيدات من عامل التنسخ المسمى اصطلاحاً TFIIH (انظر الفصل 39).



الشكل 38-23 : استئصال ـ إصلاح النوكليوتيد. تستخدم هذه الآلية من أجل إصلاح عيوب أكبر في الدنا (DNA)، وتتضمن عادة عدداً من البروتينات أكبر من تلك المتضمنة في إصلاح التزاوج غير الملائم أو استئصال الأسس. وبعد التعرف على الدنا (DNA) الذي يضم العيب وفك التفافه تقوم نوكلياز مستأصلة (Exinuclease) بقطع الدنا (DNA) بعد المنطقة المعيبة وقبلها، ثم تملأ هذه الثغرة بواسطة بوليميراز خاصة (δ/ε في الإنسان) وتربط.

تصليح الكسر مضاعف الطاق:

تعد آلية تصليح كسور الطاق المضاعف جزءاً من العملية الفيزيولوجية لإعادة ترتيب جين الجلوبولين المناعي؛ كما أنها هامة لتصليح الدنا المتأذي من الإشعاع المؤين أو تولد الجذور الحرة الأكسدية، كمثال. وتؤدي بعض عوامل العلاج الكيميائي إلى تخريب الخلايا بإحداث كسور مضاعفة الطاق في الدنا (DNA) أو بمنع تصليحها.

يتضمن إعادة الوصل غير المثلي (Nonhomologous rejoining) لكسور الدنا مضاعف الطاق بشكل أولي بروتينَين مهمين. الأول (Ku) وهو مَثنوي متغاير مؤلَّف

من وحيدتين مختلفتين بوزن 70 و 60 كيلو دالتون ويرتبط مع نهايات الدنا الحرة ويحمل فعالية هيليكاز معتمدة على الأتب (ATP)، لكنها كامنة. وعند ارتباطه بالدنا، يقوم هذا البروتين المثنوي (Ku) باستنفار كيناز بروتينية استثنائية معتمدة على الدنا (DNA-PK) (البروتين الثاني).

ويمتلك هذا الأخير موضعاً لربط النهايات الحرة للدنا (DNA) وآخر لربط جزيء الدنا مضاعف الطاق (dsDNA) داخل هذه النهايات مباشرة؛ ولذلك فهو يسمح بتقارب النهايتين المفصولتين. ويقوم المعقد المكون من الدنا (DNA) حر النهاية المرتبط بـ Ku المرتبط بـ DNA-PK بتنشيط الكيناز في البروتين الأخير. يسمح هذا لكل من جزيئي الكيناز بفَسفَتة كل من Ku وجزيء الـ DNA-PK الآخر على الطاق المقابل بشكل مفروق. ثم يفترق DNA-PK عن الدنا (DNA) و Ku مما يؤدي إلى تنشيط فعالية الهيليكاز الكامنة في Ku ليقوم بفك التفاف النهايتين.

بعد ذلك، يشكل الدنا (DNA) الناتج، المتقارب وغير الملتف، أزواجاً من الأسس. وتنزع الذيول النوكليوتيدية الإضافية بواسطة نوكلياز خارجية، وتملأ الثغرات، ثم تلحم بإنزيم ليجاز الدنا (DNA). ويوضح (الشكل 38-24) آلية التصليح هذه.

بعض إنزيمات التصليح متعددة الوظائف:

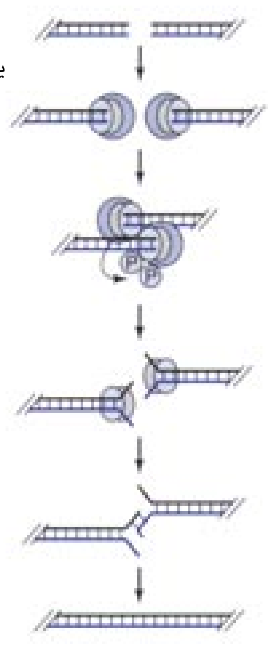
كانت الملاحظة الحديثة بأن بروتينات تصليح الدنا يمكنها أن تخدم أهدافاً أخرى مفاجئة لنا إلى حد ما.

فعلى سبيل المثال، وجد أن بعض إنزيمات التصليح توجد أيضاً كمكونات في المعقد الكبير TFIIH الذي يقوم بدور مركزي في انتساخ الجين (الفصل 39). كما يساهم مكون آخر من TFIIH في تنظيم دورة الخلية. وهكذا، يمكن أن ترتبط ثلاث عمليات خلوية حرجة باستخدام بروتينات مشتركة. وهناك أدلة جيدة على أن بعض إنزيمات التصليح تشترك في إعادة ترتيب الجينات التي تحدث بشكل سوي.

يعاني مرضى رنح توسع الشعيرات (Ataxia-telangiectasia) الوراثي (جسدي متنح) في الإنسان من الرنح المخيخي (Cerebellar ataxia) والأورام اللمفاوية

الشبكية (Lymphoreticular neoplasms) والحساسية المفرطة للأذية بأشعة X. ويبدي المرضى المصابون بفقر الدم من نمط فانكوني (Fanconi's anemia) (جسدي متنح أيضاً) زيادة في تواتر حدوث السرطان وعدم ثبات كروموسوميا؛ وقد يكون لديهم عيب في تصليح أذية الارتباط المتصالب.

وتترافق كافة هذه المتلازمات السريرية المذكورة سابقاً بزيادة تواتر السرطان. ومن المحتمل أن تكتشف في المستقبل أمراض بشرية أخرى ناجمة عن اضطرابات في القدرة على تصليح الدنا (DNA).



الشكل 38-24 : إصلاح الكسر مضاعف الطاق في الدنا (DNA). يشترك البروتين Ku والكيناز البروتينية المعتمدة على الدنا(DNA) في تقريب الطاقين وفك التفافهما؛ وتتشكل الشدف المتراصفة أزواج الأسس، وتنزع النهايات الزائدة وتملأ الثغرات وتستعاد استمرارية الدنا (DNA) بواسطة الربط.

الخلاصة:

يرتبط الدنا (DNA) في خلايا حقيقيات النوى مع عدة أنواع من البروتينات مشكلاً بنية تدعى الكروماتين. ويعادل طول حلزون الدنا (DNA) مضاعف الطاق في كروماتين كل كروموسوم، في حقيقيات النوى، ما مقداره آلاف المرات من قطر نواة الخلية. ويتحد معظم هذا الدنا (DNA) مع بروتينات هيستونية لتشكيل بنية تدعى الجسيم النووي. وتقوم الجسيمات النووية بتكنيز (Compact) الدنا (DNA). وكذلك تفعل البُنى الأخرى ذات الترتيب الأعلى كالليف 10– نم والليف 30– نم. وقد يكون نحو 90 ٪ من الدنا (DNA) غير فعال انتساخياً. يكون هذا الدنا (DNA) مرتبطاً بالجسيمات النووية وغير حساس للهضم بواسطة إنزيمات النوكلياز. أما الدنا (DNA) في المناطق الفعالة انتساخياً فيكون حساساً لمهاجمة النوكلياز، وبعض مناطقه تكون أكثر حساسية بشكل استثنائي وغالباً ما تحتوي على مواقع التحكم بالانتساخ. ويتجمع، على الغالب، الدنا الفعال انتساخياً (الجينات) بشكل عناقيد في بعض المناطق من كل كروموسوم؛ وضمن هذه المناطق، يمكن أن تكون الجينات منفصلة عن بعضها بواسطة دنا (DNA) غير فعال على شكل جسيمات نووية. كما يوجد تقسيم إضافي آخر في الجين نفسه. وتتألف وحدة الانتساخ، التي هي ذاك الجزء من الجين الذي ينتسخ بواسطة بوليميراز الرنا (RNA)، من مناطق الترميز (الإكسونات) مفصولة بتسلسلات (متواليات) اعتراضية من الدنا (DNA) غير المرمِّز (الإنترونات). أثناء معالجة الرنا (RNA)، تنتزع الإنترونات وتربط الإكسونات معاً لتشكيل الرنا المرسال (mRNA) الناضج الذي يظهر في الهيولى.

ويتوضع دنا (DNA) خلايا حقيقيات النوى غير المنقسمة في الكروموسومات التي ترتبط بشكل أزواج متماثلة. وينتسخ الدنا (DNA) في كل كروموسوم بدقة حسب قواعد ازدواج الأسس، وذلك في الطور S من دورة الخلية. ويجري تنسخ كلا طاقي الحلزون المضاعف بآن واحد، لكن بآليات مختلفة نوعاً ما. ويقوم معقد من البروتينات، يضم بوليميراز الدنا (DNA)، بنسخ الطاق الموجه بشكل متواصل بالاتجاه ´5 إلى ´3. ويجري تنسخ الطاق المتلكئ بشكل غير متواصل على شكل شُدف قصيرة مؤلفة من 150-250 نوكليوتيداً وبالاتجاه ´3 إلى ´5. ويجري ربطها بواسطة ليجاز الدنا (DNA).

ويحدث تنسخ الدنا (DNA) في عدة مواضع من كل كروموسوم تدعى فقاعات التنسخ. وتستغرق العملية بأكملها 9 ساعات في الخلية النموذجية. وتقوم آليات متعددة، تستخدم إنزيمات مختلفة، بتصليح عيوب الدنا (DNA) كما يحدث بعد التعرض لمولدات الطفرات (Mutagen) الكيميائية أو الأشعة فوق البنفسجية.

***References:**

- Chu G: Double strand break repair. J Biol Chem 1997;272:24097.

- Coverly D, Laskey RA: Regulation of eukaryotic DNA replication. Annu Rev Biochem 1994; 63:754.

- Depamphilis ML: Origins of DNA replication in meatzoan chromosmes. J Biol chem 1993;268:1.

- Felsenfeld G: Chromatin unfolds. Cell 1996;86:13.

- Gross DS, Garrard WT: Nuclease hypersensitive sites in chromatin. Annu Rev Biochem 1988;57:159.

- Hartwell LH, Kastan MB. Cell cycle control and cancer. Science 1994;266:1821.

- Marians KJ: Prokaryotic DNA replication. Annu Rev Biochem 1992;61:673.

- Modrich P: Strand-specific mismatch repair in mammalian cells. J Biol chem 1997;272:24727.

- Sancar A: Excision repair in mammalian cells. J Biol Chem 1995;270:15915.

- Sherr CJ: Mammalian Gl cyclins and cell cycle progression. Proc Assoc Amer Phys 1995;107:181.

- Stillman B: Initiation of chromosomal DNA replication in eukaryotes. J Biol chem 1994;269:7047.

- van Holde K, Zlatanova J: Chromatin higher order: Chasing a mirage? J Biol Chem 11995;270:8373.

- Wang TS: Eukaryotic DNA polymerases. Annu Rev Biochem 1991;60:513.

- Wood RD: Nucleotide excision repair in mammalian cells J Biol Chem 1997;272:23465.

الفصل التاسع والثلاثون

تخليق الرنا (RNA) ومعالجته وتحويره

RNA Synthesis, Processing, and Modification

المقدمة والأهمية الطبيّة البيولوجية:

يعتبر تخليق جزيء الرنا (RNA) من الدنا (DNA) عملية معقَّدة جداً تتضمن واحداً من مجموعة إنزيمات بوليميراز الرنا (RNA polymerase) وعدداً من البروتينات المرافقة. وتتضمن مراحلُ تخليق النسخة الأولية كلاً من الابتداء (Initiation) والتطويل (Elongation) والإنهاء (Termination). وأصبحنا نعرف الكثير عن المرحلة الأولى (الابتداء)، فقد تم التعرف على العديد من مناطق الدنا (DNA) [تتوضع غالباً في الناحية 5´ (ويُطلق عليها اصطلاحاً «قبل» أو «أعلى» (Upstream)) من موقع الابتداء] وعلى العديد من العوامل البروتينية التي ترتبط بهذه المتواليات لتنظم عملية ابتداء الانتساخ (Transcription). وأكثر فهمنا لهذه العملية جاء من فهمنا الواضح لها في طليعيات النوى والڤيروسات، وقد حققنا تقدماً كبيراً في توضيحها عند الثدييات خلال السنوات الأخيرة.

تمتلك بعض جزيئات الرنا (RNA)، ولا سيما الرنا المرسال (mRNA)، أعماراً مختلفة، ولذلك فمن الضروري فهم المبادئ الأساسية لأيضها لأن التحوير فيه يؤدي إلى تغيرات في معدلات تخليق البروتينات وبالتالي في معدلات العمليات الأيضية ككل؛ وهي الوسيلة التي تتخذها كل الكائنات الحية لتتلاءم مع بيئتها، كما أنها الطريقة التي توصلت من خلالها التّوالي (Metazoan) العليا إلى بنية خلاياها المتمايزة ووظيفتها والحفاظ عليهما.

تختلف عادة جزيئات الرنا (RNA) المُخَلَّقة في الثديات بشكل ملحوظ عن تلك المُخَلَّقة في طليعيّات النوى، وخاصة تلك النسخ المُرَمِّزة للرنا المرسال (mRNA)؛ ففي طليعيات النوى، يمكن للرنا المرسال أن يترجم إلى بروتين خلال الوقت نفسه الذي يُنتَسَخ فيه، بينما تُخَلَّق مُعظم جزيئات الرنا المرسال (mRNA) في الثدييات على شكل جزيئات طليعيّة (Precursors) يجب أن تتم معالجتها (Processing) إلى الشكل الناضج الفعال من الرنا (RNA). ولعل من المهم أن نذكر أن الخطأ في هذه المعالجة والتضفير (Splicing) هو أحد أسباب الأمراض (أنواع معينة من الثلاسيميّة مثلاً) (الفصل 24).

يوجد للرنا (RNA) أربعة صفوف (أنواع) رئيسية:

تحتوي كل خلايا حقيقيات النوى على أربعة أنواع (صفوف) من الرنا (RNA): الريباسي (rRNA) والمِرسال (mRNA) والنقال (tRNA) والرنا النووي الصغير (snRNA). تخدم الثلاثة الأولى عملية تخليق البروتينات بينما يختص الأخير بعملية تضفير الرنا المرسال (mRNA) .وكما هو واضح في (الجدول 39-1)، تختلف هذه الصفوف في تنوعها وكميتها في الخلية.

الرنا	الأنماط	الوفرة
الريباسي	28S ، 18S ، 58S	80٪ من كافة أشكال الرنا
المرسال	نحو 10^5 نوع	نحو 5٪ من الإجمالي
النقال	نحو 50 نوعاً	
النووي الصغير (sn)	نحو 10 أنواع	نحو 15 ٪ من الإجمالي

الجدول 39-1 : صفوف الرنا (RNA) في حقيقيات النوى.

يُخَلَّق الرنا من مِرصاف على الدنا بواسطة بوليميراز الرنا:

يتشابه تخليق الدنا (DNA) والرنا(RNA) في أنهما يتضمنان:

1 – المراحل العامة نفسها من ابتداء وتطويل وإنهاء مع الحفاظ على القطبية ´5 إلى ´3.

2 – معقدات ابتداء كبيرة جداً ومتعددة الوظائف.

3 – الخضوع لقواعد واطسن ـ كريك في ازدواج الأسس.

ويختلفان عن بعضهما بعدة أمور منها:

1 – تُستخدم الريبونوكليوتيدات في تخليق الرنا (RNA) وليس ديوكسي الريبونوكليوتيدات.

2 – يُستَبدَل الثيمين (T) باليوراسيل (U) في الرنا (RNA) كمُتمّم للأدينين (A).

3 – لا يتضمن تخليق مشرع الرنا (Primer RNA).

4 – يُنتَسَخ جزء صغير فقط من الدنا (DNA) إلى جزيء الرنا (RNA) بينما يجب أن يتنسَّخ كامل المَجين خلال تخليق الدنا (DNA).

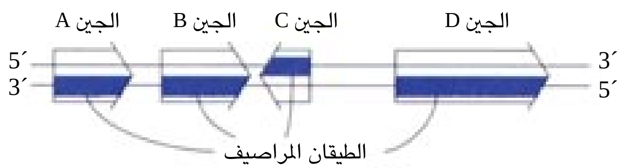
5 – لا توجد عملية تدقيق (Proofreading) خلال انتساخ الرنا (RNA).

أصبحنا نعرف تفاصيل عملية انتساخ الرنا (RNA) من مِرصاف الدنا (DNA) في طليعيات النوى بشكل جيد. ورغم الاختلاف الكبير في تنظيم الانتساخ ومعالجة نُسَخ الرنا (RNA) في خلايا الثدييات عنها في طليعيات النوى، فإن عملية تخليق الرنا (RNA) بحد ذاتها تتشابه إلى حد كبير في هذين الصفين من الكائنات الحية. وبناء عليه، فإن وصفنا التالي للانتساخ في طليعيات النوى قابل للتطبيق على حقيقيات النوى حتى ولو اختلفت الإنزيمات المشاركة والإشارات التنظيمية.

يُنتَسَخ (يُنسَخ) طاق الدنا المِرصاف:

يكون تسلسل الريبونوكليوتيدات في جزيء الرنا (RNA) مُتمّماً لتسلسل

الديوكسي ريبونوكليوتيدات في أحد طاقَي جزيء الدنا (DNA) مضاعف الطاق (الشكل 37-8). ويُدعى الطاق الذي يتم انتساخُه إلى جزيء من الرنا (RNA) بالطاق المِرصاف (Template)، بينما يُدعى الآخر بالطاق المُرَمِّز أو طاق التّرميز (Coding) لذلك الجين. ودعي كذلك لأن تسلسله يشابه تماماً ذاك الموجود في نسخة الرنا (RNA) التي تُرَمِّز للناتج النهائي (البروتين)، اللّهم إلا في احتواء الأخير على اليوراسيل بدلاً من الثيمين الموجود في الدنا (DNA). وعندما يحتوي جزيء الدنا (DNA) مضاعف الطاق على أكثر من جين، فهذا لا يعني أن الطاق المِرصاف لإحدى هذه الجينات يجب أن يكون بالضرورة مرصافاً للأخرى (الشكل 39-1). وهكذا، يخدم طاق مُعين من جزيء الدنا (DNA) مضاعف الطاق كمرصاف لبعض الجينات وكمُرَمِّز لبعضها الآخر. لاحظ أنّ تسلسل النوكليوتيدات في نسخة الرنا (RNA) سيكون نفسه (مع استبدال الثيمين باليوراسيل) في طاق الترميز من الدنا (DNA)، وأن المعلومات الوراثية الموجودة في المِرصاف تُقرأ بالاتجاه ´3 إلى ´5.

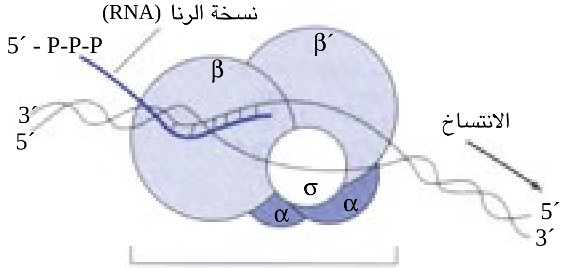


الشكل 39-1 : يبين هذا الشكل كيف أن الجينات يمكن أن تنتسخ من كلا الطاقين في الدنا (DNA). تشير رؤوس الأسهم إلى اتجاه الانتساخ (القطبية). لاحظ أن الطاق المرصاف يقرأ دائماً بالاتجاه ´3 إلى ´5. ويدعى الطاق المعاكس بطاق الترميز لأنه مطابق (عدا استبدال U بـ T) لمنتسخ الرنا المرسال (mRNA) (المنتسخ الأولي في خلايا حقيقيات النوى) الذي يرمز الناتج البروتيني الجيني.

يبتدئ بوليميراز الرنا المعتمد على الدنا الانتساخ عند المعزاز (Promoter):

بوليميراز الرنا (RNA) المعتمد على الدنا (DNA) هو الإنزيم المسؤول عن بلمرة النوكليوتيدات في تَسلسل مُتَمّم لذاك الموجود في الطاق المِرصاف للجين (انظر الشكلين 39-2 و 39-3). ويرتبط الإنزيم في موقع نوعي (المِعزاز) على المرصاف. يلي ذلك ابتداء تخليق الرنا (RNA) عند نقطة الابتداء (Iinitiation point) وتستمر العملية حتى بلوغ متوالية الإنهاء (Termination sequence) (الشكل 39-3). وتُعَرَّف وحدة الانتساخ (Transcription unit) على أنها تلك المنطقة من الدنا (DNA) الممتدة بين المِعزاز و «المُوقِف» أو «المُنهي» (Terminator). كما أن الرنا (RNA) الناتج والمُخَلَّق بالاتجاه ´5 إلى ´3 هو النّسخة الأولية (أو المُنتَسَخ الأولي) (Primary transcript)، وهي قد تُمَثّل منتجاً لعدة جينات متواصلة في طليعيات النوى، لكنها تمثّل عادة مُنتجاً لجين واحد في الثدييات. وتكون النهايتان ´5 لكل من النسخة الأولية والرنا الناضج الموجود في الهيولى متماثلتَيْن، مما يعني أن نقطة ابتداء الانتساخ توافق النوكليوتيد الموجود في النهاية ´5 للرنا المرسال (mRNA). يُسمى هذا الموضع بالموضع +1 (وكذلك يسمى ذات الموضع في الدنا (DNA)) ويزداد الرقم كلما تقدمنا في المتوالية إلى الأمام («بعد» أو «أدنى» (Downstream)) بالاتجاه ´3. ويساعد هذا الترقيم العُرفي في تحديد مواضع مناطق معينة كحدود الإنترونات والإكسونات مثلاً. ويُرمَز لنوكليوتيد المِعزاز المجاور لموقع ابتداء الانتساخ بالرقم –1، وتزداد هذه الأرقام السلبية كلما اتجهنا إلى الخلف («أعلى» أو «قبل» (Upstream)) بعيداً عن موقع الابتداء باتجاه النهاية ´5. ويُساهم هذا الاتفاق في تحديد مواضع عناصر التنظيم في المِعزاز.

وفيما يتعلق بالنُّسخ الأولية التي يولدها البوليميراز II، فإنه سرعان ما تُضاف إلى كل منها قُلُنسوة قوامها 7– ميثيل الجوانوزين ثلاثي الفسفات (الشكل 37-10). تبقى هذه القُلنسوة وتظهر أخيراً في النهاية ´5 من جزيء الرنا المرسال (mRNA) الهيولي. ويُفترض أن هذه القلنسوة ضرورية للمعالجة اللاحقة للنسخة الأولية للرنا المرسال ولترجمته ولحمايته من هجوم النوكلياز الخارجي الذي يعمل في الاتجاه ´5 إلى ´3.



الشكل 39-2 : يقوم بوليميراز الرنا RNAP بتحفيز بلمرة الريبونوكليوتيدات ضمن تسلسل جزيء الرنا (RNA) الذي يكون متمماً للطاق المرصاف من الجين. ويتمتع الرنا (RNA) المنتسخ بقطبية (5´ إلى 3´) طاق الترميز نفسه. ولكنه يحتوي على U بدلاً من T. ويتألف (RNAP) في الإشريكية القولونية من معقد لبي مكون من وحيدتين α ووحيدتين β (β و β). ويضم عميم الإنزيم (Holoenzyme) العامل سيجما (σ) عندما يكون قريباً من موضع ابتداء الانتساخ (ضمن نحو 10 أزواج من الأسس)، ثم يتقدم الانتساخ بالمعقد اللبي وحده. وفقاعة الانتساخ (Bubble) هي منطقة من الدنا (DNA) المصهور تقدر بنحو 17 زوجاً من الأسس، ويغطي المعقد الكامل 30-75 زوجاً من الأسس تبعاً لهيئته.

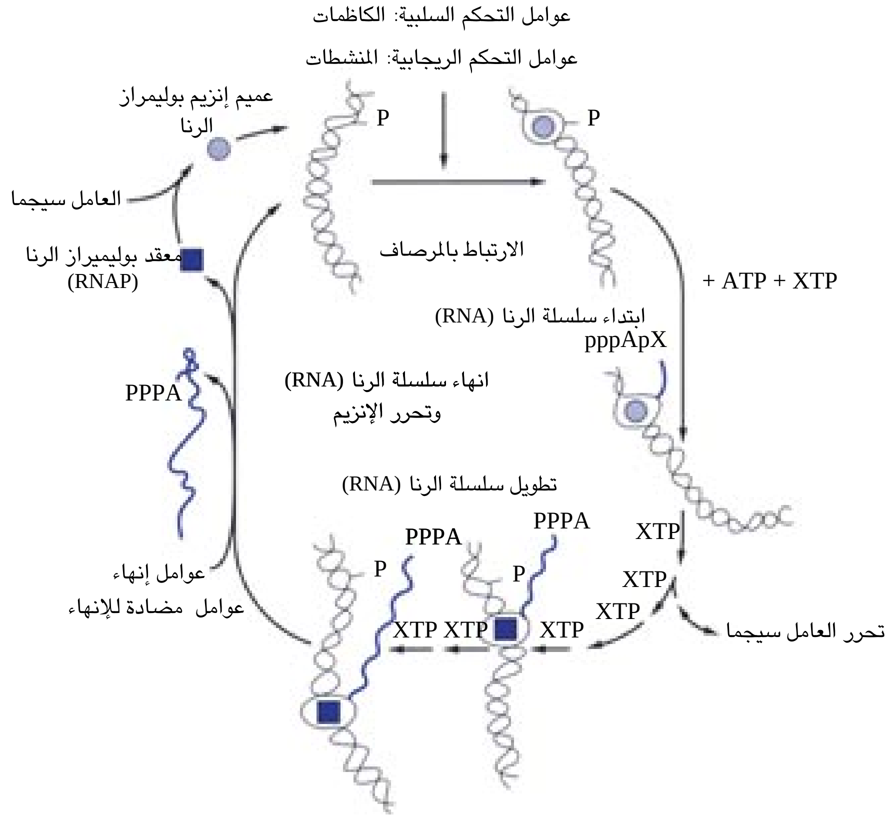
بوليميراز الرنا الجرثومي المعتمد على الدنا هو إنزيمٌ عديد الوحيدات:

يوجد بوليميراز الرنا (RNA) المعتمد على الدنا [RNAP] (DNA) الخاص بجرثومة الإشريكية القولونية على شكل لب (core) (350 كيلو دالتون) مكون من (الشكل 39-2):

1 – وُحَيدَتَا ألفا (α) متطابقتين.

2 – وُحَيدَتان متشابهتان لكن ليستا متطابقَتَين (β و β´). ويُظَن أن الوُحَيدة بيتا هي الوُحيدة التحفيزية.

3 – وحَيدَة أوميجا (ω).



الشكل 39-3 : دورة الانتساخ في الجراثيم. يتم انتساخ الرنا الجرثومي في أربع مراحل: (1) الارتباط بالمرصاف: يرتبط بوليميراز الرنا (RNAP) بالدنا (DNA) ويجد المعزاز، (2) ابتداء السلسلة: يحفز عميم الإنزيم (اللب + العوامل سيجما) اقتران الأساس الأول (ATP أو GTP عادة) إلى ريبوز النوكليوزيد ثلاثي الفسفات الثاني لتشكيل ثنائي النوكليوتيد؛ (3) تطويل السلسلة: تضاف ثمالات متلاحقة إلى النهاية 3-OH´ من جزيء الرنا (RNA) الوليد، وينفصل σ عن عميم الإنزيم بعد أن تصبح السلسلة بطول نحو 10 أزواج من الأسس؛ (4) إنهاء السلسلة وتحريرها: يتحرر الرنا (RNA) المكتمل والإنزيم RNAP من المرصاف، ويعاد تشكيل العميم الذي يجد المعزاز، وتعاد الدورة من جديد.

ويحـــتـــوي إنزيم بوليـــمـــيـــراز الرنا (RNAP) هذا أيضـــاً، وهو إنزيم فلزي (Metalloenzyme)، على جُزَيئَين من الزنك (Zinc). ويَتَّحد لب البوليميراز مع عامل بروتيني يُدعى «العامل سيجما (σ)» يُساعده على الارتباط بقوة أكبر مع متواليةِ نوكليوتيدات في منطقة المعزاز. وتحوي الجراثيم على عدة عوامل من هذا النوع (σ) يعمَل كل منها كبروتين تنظيمي يقوم بتعديلِ نوعية التعرف على المعزاز من قبل البوليميراز. ويمكن ربط ظهور عوامل سيجما المختلفة واختفائها مع البرامج المختلفة للتعبير الجيني في الجمل طليعية النوى كتطور العاثيات والتبوغ والاستجابة لصدمة الحرارة.

يوجد في خلايا الثدييات عدة بوليميرازات للرنا معتمدة على الدنا:

يحتوي (الجدول 39-2) على وصف لخصائص إنزيمات بوليميراز الرنا (RNA polymerases) في الثدييات. ويبدو أن كلاً من هذه الإنزيمات يختص بانتساخ طاقم مختلف من الجينات. ويتراوح الوزن الجزيئي لإنزيمات بوليميراز الرنا (RNA Pol) الخاصة بالصفوف الثلاثة الرئيسية من الرنا (RNA) في حقيقيات النوى بين 500,000 و 600,000، وهي أكثر تعقيداً بكثير من ذاك الخاص بطليعيات النوى. وكلها تتكون من وحَيدَتَين كبيرتين وعدد من الوحَيدات الأصغر يصل إلى 14 في البوليميراز II (RNA Pol II).

صف الإنزيم	الحساسية للأمانيتين ألفا	النواتج الرئيسية
(A) I	غير حساس	الرنا الريباسي
(B) II	حساس للتراكيز المنخفضة (10^{-9} – 10^{-8} مول/ل)	(mRNA) hnRNA
(C) III	حساس للتراكيز العالية	tRNA و 5S RNA

الجدول 39-2 : أسماء إنزيمات بوليميراز الرنا الحيوانية المعتمدة على الدنا (DNA- dependent RNA Polymerases)

وهناك تماثل بين بوليميراز الرنا في حقيقيات النوى وبوليميراز الرنا لطليعيات النوى من حيث الأحماض الأمينية التي تكون كلاً منهما. وما تزال وظيفة كل من الوحيدات غير مفهومة بعد، ويمكن أن يكون للكثير منها وظيفة تنظيمية كأن تقوم بمساعدة البوليميراز في التعرف على متواليات نوعية مثل المعازيز وإشارات الإنهاء.

يُعتَبَر السُّم الفِطري الببتيدي الذي يُدعى الأمانيتين ألفا (α- amanitin) مُثبطاً نوعياً لبوليميراز الرنا المعتمدة على الدنا (DNA) الموجود في هيولى النواة في حقيقيَّات النوى (بوليميراز الرنا II)، ولهذا فهو أحد أدوات البحث المهمة (الجدول 39-2). ويعتقد بأنه يقوم بوقف عملية إزفاء[1] (Translocation) بوليميراز الرنا II في أثناء الانتساخ.

يتضمن تخليق الرنا الابتداء والتطويل والإنهاء:

تتضمن عملية تخليق الرنا (RNA) في الجراثيم (الموضحة بالشكل 39-3) أولاً ارتباط جزيء عميم بوليميراز الرنا (Holopolymerase) (RNAP) بالمرصاف عند موقع المعزاز. ويتبع الارتباط تبدل فراغي في هيئة الإنزيم يتلوه ارتباط النوكليوتيد الأول (بورين غالباً) بموضع الابتداء على الوحَيدة بيتا من الإنزيم. وبوجود النوكليوتيدات الأربعة، يتحرك البوليميراز إلى الأساس الثاني في المِرصاف، وتتشكل رابطة فُسفودَايسترية وتصبح السلسلة الناشئة متصلة بموضع البَلمرة في الوُحَيْدة β من RNAP (يجب ملاحظة تشابه التسمية مع الموضعين A و P على الريباسة، انظر الشكل 40-9).

يتلو ابتداء (Initiation) تشكيل جزيء الرنا (RNA) عند نهايتها 5´تحرير العامل σ ليستمر بعدها تطويل جزيء الرنا (RNA) في الاتجاه 5´ إلى 3´ بشكل عكسي التوازي مع المرصاف. ويبلمُر الإنزيم الريبونوكليوتيدات بتسلسل يُمليه الطاق

1 – انتقال البوليميراز من موضعه باتجاه النوكليوتيد التالي خلال عملية الانتساخ (المترجم).

المرصاف ويخضع لقوانين ازدواج الأسس لواطسن وكريك؛ وتتحرَّر البَيروفسفات في تفاعل البَلمرة. وفي كلا طليعيات النوى وحقيقيَّات النوى، يكون أول ما يُبلمَر في جزيء الرنا (RNA) عادة هو ريبونوكليوتيد بوريني يُحافَظ عليه في طليعيات النوى ويُنزَع خلال تشكيل القُلنسوة في حقيقيات النوى.

ومع تقدم معقد التطويل (Elongation)، الحاوي على لب بوليميراز الرنا، على طول جزيء الدنا (DNA)، فإنه من الضروري فكُّ التفاف الدنا (DNA unwinding) لإفساح المجال لازدواج الأسس المتلائم مع نوكليوتيدات الطاق المرمِّز. ويكون مدى فك التفاف الدنا (DNA) ثابتاً خلال الانتساخ ويُقَدَّر بنحو 17 زوجاً لكل جزيء من البوليميراز. وهذا يعني أن امتداد فك الالتفاف يُحَدِّدُه البوليميراز وهو مستقل عن نوع التسلسل الموجود ضمن المعقد، مما يوحي بوجود فعالية «فاكة للالتفاف» مرتبطة مع البوليميراز تقوم بفتح حلزون الدنا (DNA).

إن وجوب فك التفاف الحلزون المضاعف للدنا (DNA) وتباعد الطيقان ـ مؤقَّتاً على الأقل ـ ليجري الانتساخ يعني بالضرورة حدوث بعض التخريب في بنية الجسيم النووي في خلايا حقيقيَّات النوى. ويتبع إنزيم الطوبوإيزوميراز معقد الانتساخ المتقدَّم للحيلولة دون تشكيل معقَّدات حلزونية فائقة الالتفاف.

يُحَدَّد إنهاء (Termination). تخليق جزيء الرنا (RNA) في الجراثيم بواسطة متوالية في الطاق المرصاف من جزيء الدنا (DNA) يتعرف عليها بروتين إنهاء هو العامل رو (rho) (p) والرو (rho) هو عبارة عن هيليكاز معتمد على الأتب (ATP) ومتخصص بالمعقد رنا ـ دنا ويقوم بفصلِ المعقد الوليد رنا ـ دنا. وبعد إنهاء تخليق جزيء الرنا (RNA)، ينفصل لب الإنزيم عن مرصاف الدنا (DNA). وبالاستعانة بعامل سيجما آخر، يتعرَّف الإنزيم على مِعزاز آخر يبدأ عنده تخليق جزيء جديد من الرنا (RNA).

أما في حقيقيات النوى، فمعرفتنا عن عملية الإنهاء أقل، ويبدو أنها مرتبطة بإضافة الذيل عديد الأدينيلات إلى النهاية ´3 من الرنا المرسال (mRNA) وأنها تتضمن زعزعة استقرار المعقد رنا ـ دنا عند منطقة غنية بالزوج A-T.

وقد يقوم أكثر من جزيء من بوليميراز الرنا بانتساخ الطاق المرصاف نفسه لجين معين بآن واحد، إلا أن العملية تكون وفق أطوار متواقتة ومنفصلة بحيث أنه في أي وقت يقوم كل إنزيم من الإنزيمات بانتساخ جزء مختلف من متوالية الدنا (DNA). ويحوي (الشكل 39-4) صورة بالمجهر الإلكتروني لتخليق الرنا (RNA).



الشكل 39-4 : صورة بالمجهر الإلكتروني لنسخ متعددة من جينات الرنا (RNA) الريباسية عند البرمائيات أثناء عملية الانتساخ بتكبير يبلغ نحو 6,000 مرة. لاحظ تطاول المنتسخات مع تقدم بوليميراز الرنا على طول جينات الرنا الريباسية كل على حدة. وهكذا، يكون للنهاية القريبة للجين المنسوخ نسخ قصيرة ترتبط بها، في حين يرتبط بالنهايات البعيدة للجين نسخ أطول بكثير. وتشير الأسهم إلى اتجاه الانتساخ (5´ إلى 3´).

يتم التحكم بدقة الانتساخ وتواتره بواسطة بروتينات ترتبط بمتواليات معينة:

لقد سمح تحليل تسلسل نوكليوتيدات الدنا (DNA) في جينات معينة بالتعرف على عدد من المتواليات الهامة في انتساخ الجين. ومن دراسة عدد كبير من الجينات الجرثومية أمكن إنشاء نماذج اتفاقية لإشارات ابتداء الانتساخ وإنهائه.

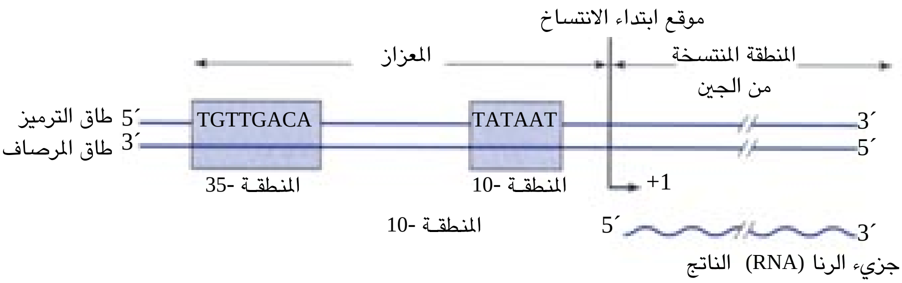
ليس السؤال عن كيفية إيجاد بوليميراز الرنا الموضع الصحيح لابتداء الانتساخ ترفاً علمياً عندما نأخذ بالاعتبار مدى تعقيد المَجين، فالإشريكية القولونية تحوي 2 × 10^3 موقعاً لابتداء الانتساخ في مجينها الذي يبلغ طوله 4 × 10^6 زوجاً من الأسس. أما في الإنسان، فالوضع أكثر تعقيداً؛ حيث أن هناك نحو 10^5 موضعاً لابتداء الانتساخ مُبعثراً ضمن 3 × 10^9 زوجاً من الأسس من الدنا (DNA). ويستطيع بوليميراز الرنا (RNAP) أن يرتبط بمناطق كثيرة من الدنا (DNA) لكنه يتفرس (Scan) تسلسل الدنا (DNA) بمعدل 10^3 زوجاً من الأسس/ثا إلى أن يتعرف على مناطق نوعية معينة من الدنا (DNA) ويرتبط بها بألفة عالية. وتدعى هذه المنطقة باسم المِعزاز (Promoter) الذي يضمن ارتباطُ الـ RNAP به الابتداء الدقيق للانتساخ.

المعازيز الجرثومية بسيطة نسبياً:

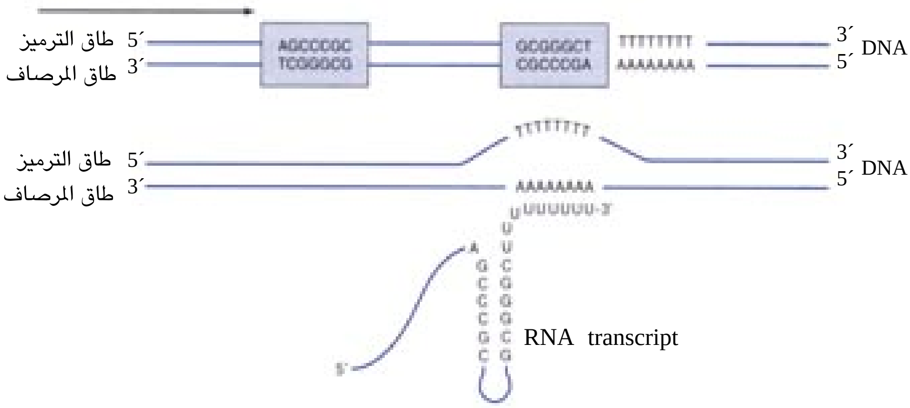
يبلغ طول المعازيز الجرثومية 40 نوكليوتياً تقريباً (40 زوجاً من الأسس أو أربع لفات من الحلزون المضاعف للدنا (DNA))، وهي منطقة صغيرة بشكل كاف لتُغطَّى بجزيء عميم بوليميراز الرنا (RNAP) في الإشريكية القولونية. ويوجد ضمن منطقة المِعزاز هذه عنصران من المتواليات المُصانة (Conserved). ويوجد على بعد 35 زوجاً من الأسس تقريباً أعلى (قبل) (Upstream) موضع الابتداء تسلسل (متوالية) مؤلف من ثمانية أزواج نوكليوتيدية (´3 - TATAAT - ´5) يرتبط بها RNAP لتشكيل ما يدعى المعقَّد المغلَق. كما يوجد (أقرب إلى موضع ابتداء الانتساخ وعلى بعد عشرة نوكليوتيدات قبله (أعلاه)) تسلسل (متوالية) مؤلف من ستة أزواج نوكليوتيدية غني بالزوج (´3 5´-TATAAT) A-T (الشكل 39-5)، ويتميز هذا التسلسل الأخير بدرجة انصهاره المنخفضة بسبب افتقاره لأزواج النوكليوتيدات

G-C. ولهذا يُعتقد بأن صندوق TATA (TATA Box) يسهل انفصال طاقي الدنا المُرمِّز وغير المرمِّز بحيث أن البوليميراز المرتبطة بالمِعزاز سوف تتمكن من الوصول إلى تسلسل النوكليوتيدات للطاق المِرصاف الذي يقع مباشرة أسفل (Downstream) المِعزاز؛ يُدعى المعقَّد المفتوح. وتمتلك الجراثيم الأخرى متواليات توافقية مختلفة قليلاً في المِعزاز الخاص بها، إلا أنها تملك جميعاً ـ بشكل عام ـ مُكونين في المِعزاز يميلان لأن يكونا في الموضع نفسه نسبة إلى موضع ابتداء الانتساخ؛ وفي جميع الحالات تكون المتواليات الواقعة ما بين الصناديق غير متماثلة.

يبدو أن لإشارات إنهاء الانتساخ (Termination signals) المعتمدة على عامل الرو (Rho) في الإشريكيَّة القولونية تسلسلاتٍ (متواليات) توافقية مُصانة ومُتميزة أيضاً (الشكل 39-6) يبلغ طولُها نحو 40 زوجاً من النوكليوتيدات، وتحتوي على تكرار مقلوب (Inverted repeat) متصل أو متقطع تتبعه سلسلة من أزواج الأسس AT. ومع تقدُّم الانتساخ خلال التكرار المقلوب المتصل، فإنه يمكن للمُنتسَخ الناتج أن يشكل بنية ملقط الشعر (Hairpain) (الشكل 39-6). ويستمر الانتساخ خلال منطقة الـ AT حتى يتوقف بوليميراز الرنا (بمساعدة عامل الإنهاء البروتيني رو (p)) وينفصل عن الدنا (DNA) ويتحرر الجزيء الوليد.



الشكل 39-5 : تشترك المعازيز الجرثومية (كتلك الموجودة في الإشريكية القولونية والموضحة هنا) بوجود منطقتين فيهما متواليات نوكليوتيدية مصانة بحزم، وتقعان على بعد 35 و 10 أزواج من الأسس (بالاتجاه ´5 من طاق الترميز) أعلى موقع ابتداء الانتساخ المشار إليه بـ +1. وقد جرى الاصطلاح على ترقيم جميع النوكليوتيدات الواقعة أعلى موقع ابتداء الانتساخ (ذي الرقم +1) بإعطائها الإشارة السلبية (-)، كما اصطلح أيضاً على أن متواليات العناصر المنظمة للدنا (DNA) (الصندوق TATA.. إلخ) توصف بالاتجاه ´5 إلى ´3، وأنها تقع على طاق الترميز. ولا تعمل هذه العناصر إلا في الدنا (DNA) مضاعف الطاق. لاحظ أن للنسخة التي تنتج من هذا الانتساخ القطبية نفسها (´5 إلى ´3) لطاق الترميز.



الشكل 39-6 : تحتوي إشارة إنهاء الانتساخ في الجين الجرثومي على تكرار مقلوب وموصول (المنطقتان ضمن الصندوقين) يتبعه امتداد من أزواج الأسس AT (الرسم العلوي). ولدى انتساخ التكرار المقلوب إلى الرنا (RNA) يشكل البنية الثانوية لنسخة الرنا (RNA) والموضحة بالرسم السفلي.

المعازيز في حقيقيات النوى أكثر تعقيداً:

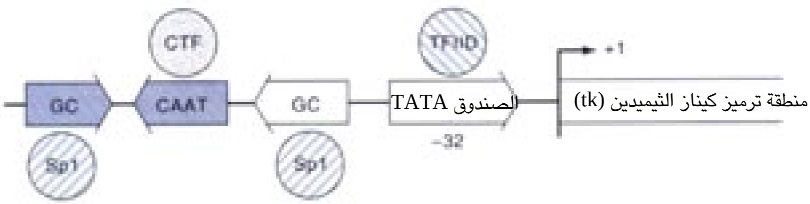
من الواضح أن للإشارات التي تنظم الانتساخ في حقيقيات النوى أنماط عديدة. اثنان منها قريبان من المِعزاز (Promoter-proximal): يحدد الأول «أين يبدأ الانتساخ على طول الدنا (DNA)»، ويحدد الثاني مدى تكرار هذا الحدث. فعلى سبيل المثال، يوجد في جين كيناز الثيميدين للهربس البسيط (Herpes simplex) ـ الذي يستخدم عوامل الانتساخ الخاصة بمضيفه من الثدييات من أجل التعبير عن جيناته ـ موضع ابتداء انتساخ فريد يعتمد الانتساخ الدقيق منه على تسلسل نوكليوتيدي متوضع على بعد 32 نوكليوتيداً أعلاه (أي عند –32) (الشكل 39-7). ولهذه المنطقة التسلسل (المتوالية) TATAAAAG، ويشبه إلى حد كبير الصندوق TATA ذي الوظيفة نفسها والواقع على بعد 10 أزواج من الأسس أعلى المجرى من

مواقع ابتداء انتساخ الرنا المرسال (mRNA) (الشكل 39-5) عند طليعيات النواة. وتؤدي طفرات الصندوق ATAT أو تثبيطه إلى نقص انتساخ جين الهربس البسيط بشكل واضح. تحتوي معظمُ جينات الثدييات على الصندوق TATA الذي يقع عادة على بعد 15-30 زوج من الأسس أعلى (Upstream) موضع ابتداء الانتساخ. وتكون التسلسل (المتولية) التوافقية هو TATAAA، مع احتمال وجود فوارق عديدة تتضمن عادة تبديل T أو A. ويربط الصندوق TATA بروتيناً وزنه الجزيئي 30 كيلو دالتون يدعى البروتين الرابط لـTATA (TATA binding protein "TBP") الذي يربط بدوره عدة بروتينات أخرى تدعى العوامل المرتبطة بـ TBP (TBP-associated factors "TAFs"). ويرمز للمُعقد المؤلَّف من TBP و TAFs بالرمز TFIID، ويمثل ارتباطه بالصندوق TATAالخطوة الأولى في تشكيل معقد الانتساخ على المِعزاز.

يفتقد عدد قليل من الجينات الصندوق TATA. وتقوم في مثل هذه الحالات التسلسل المُبدئ (المتوالية المبتدئة) (Initiator sequence) [ترمَز لها بالرمز Inr] بتوجيه بوليميراز الرنا II إلى المِعزاز ليضمن بذلك ابتداء الانتساخ الأساسي من الموضع الصحيح. ويبدأ العنصر Inr من الموقع −3 ليمتد عبر موضع الابتداء وينتهي في الموقع +5 (أي من −3 حتى +5)، ويتألف من التسلسل التوافقي (المتوالية التوافقية): $(Py)_2 A+ {}_1NT/A (Py)_2$ التي هو في الوقت نفسه تسلسل (متوالية) موضع الابتداء في الخلية (يشير A+1 إلى أول نوكليوتيد منتسَخ). أما البروتينات التي ترتبط بـ Inr لتوجه ارتباط pol II فتشمل TFIID مع واحد أو أكثر من العوامل TAFs. وقد تكون المعازيز التي تملك الصندوق TATA والتسلسل (متوالية) Inr أقوى من تلك التي تملك أحدهما فقط.

تحدد المتواليات الأبعد من العناصر السابقة والواقعة أعلى (Upstream) موضع الابتداء معدل تكرار حدوث الانتساخ. وتؤدي الطفرات في هذه المناطق إلى انخفاض تواتر ابتداء الانتساخ من 10 إلى 20 مرة. ومن عناصر الدنا (DNA) النموذجية هذه الصناديق GC و CAAT، ودعيت كذلك بسبب متواليات الدنا (DNA) المتَضَمَّنة فيها. وكما هو موضح في (الشكل 39-7)؛ يربط كل من هذه الصناديق بروتيناً معيناً [Sp1 في حال الصندوق GC؛ CTF (أو C/EPB, NFI, NFY) في حال الصندوق

CAAT] . ومعدل تواتر ابتداء الانتساخ هو نتيجة للتآثرات بين هذه البروتينات والدنا (DNA)، أما التآثر بين البروتين والدنا (DNA) في الصندوق TATA فيضمن دقة موضع الابتداء.



الشكل 39-7 : عناصر الانتساخ والعوامل الرابطة في جين كيناز الثيميدين (tK). يرتبط بوليميراز الرنا II المعتمد على الدنا (DNA) أسفل منطقة الصندوق TATA (الذي يرتبط به عامل الانتساخ TFIID) ليعمل على بدء الانتساخ عند نوكليوتيد واحد (+1). ويزداد تواتر هذا الحدث بوجود العناصر ذات التأثير المقرون (cis) في أعلى المجرى (الصندوقان GC و CAAT). وترتبط هذه العناصر بعوامل الانتساخ ذات التأثير المفروق (trans) Sp1 و (NFy, NFI, C/EBP) على الترتيب، وتستطيع أن تعمل بشكل مستقل عن التوجه (الأسهم).

إن هذه العناصر الواقعة أعلى موقع الابتداء تمنح الدقة والتواتر لعملية الابتداء ولها متطلبات صارمة من حيث الموضع والتوجه، خاصة صندوق TATA. وتؤثر التغيرات الواقعة في أساس واحد بشكل هائل على الوظيفة، كما أن بعد هذه العناصر نسبة إلى موضع البداية حرج ومهم، وهي بشكل عام لا تعمل إذا جرى عكس التوجه 5´ إلى 3´ (الشكل 39-8). وينطبق ذلك بشكل خاص على الصندوق TATA.

هناك صف ثالث من عناصر التحكم يتكون من متواليات تستطيع زيادة معدل ابتداء انتساخ الجينات في حقيقيات النوى أو إنقاصه. وتدعى هذه العناصر بالمُعَزِّزات (Enhancers) أو الكاظمات (Repressors) بحسب طبيعة تأثيراتها. وتوجد هذه العناصر في العديد من المواقع أعلى وأدنى موضع ابتداء الانتساخ. وخلافاً لعناصر المِعزاز المجاورة والموجودة أعلى المجرى، فإن المُعَزِّزات والكاظمات يمكنها

أن تبدي تأثيرها حتى عندما تتوضع على بعد مئات أو آلاف الأسس من وحدات الانتساخ الموجودة على الكروموسوم نفسه. ومن المدهش أن عمل المُعَـزِّزات والكاظمات أو المُسكتات (Silencers) غير متعلق بالتوجه. ولقد وصف عشرات من هذه العناصر نظرياً. وفي بعض الحالات، تكون متطلبات الارتباط من ناحية المتواليات محددة بشكل قياسي بينما يُسمح بتباينها في حالات أخرى. وترتبط بعض المتواليات ببروتين واحد فقط، إلا أن الغالبية ترتبط بعدة بروتينات. وبشكل مماثل، فإنه يمكن لبروتين واحد أن يرتبط بأكثر من واحد من هذه العناصر.

تعمل عناصر الاستجابة الهرمونية (Hormone response elements) (للستيرويدات و T3 وحمض الريتينوئيك والببتيدات... إلخ) على شكل مُعَزِّزات أو مسكتات أو بالاقتران مع أحدها (الفصل 44). أما العمليات الأخرى التي تعزز أو تسكت التعبير الجيني، كالاستجابة للصدمة الحرارية والمعادن الثقيلة (Ca^{2+}وZn^{+}) وبعض السموم الكيميائية (الديوكسين مثلاً)، فتتواسطها عناصر تنظيمية نوعية. كما يتواسط التعبير النوعي النسيجي للجينات، كَجِين الألبومين في الكبد، متواليات دنا (DNA) نوعية.

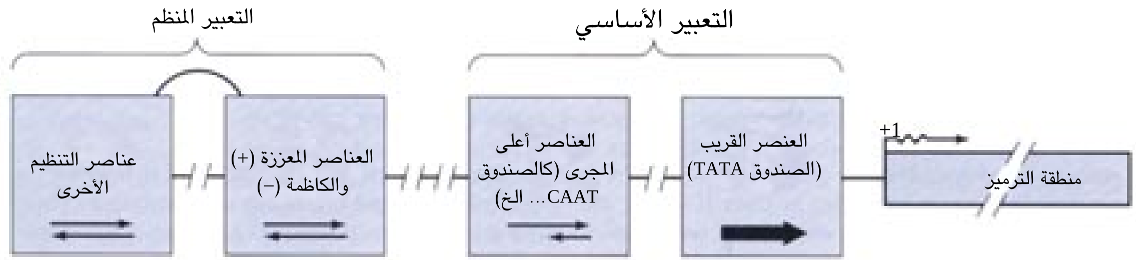
تقوم إشارات خاصة بتنظيم إنهاء الانتساخ:

إن الإشارات الخاصة بإنهاء الانتساخ بواسطة بوليميراز الرنا II لحقيقيات النوى غير مفهومة تماماً. ومع ذلك، فقد اتضح أن إشارات الإنهاء توجد أسفل المجرى بعيداً عن التسلسل (المتوالية) المُرَمِّز لجينات حقيقيات النوى. فمثلاً، تقع إشارة إنهاء انتساخ الجلوبين بيتا في الفأر في عدة مواضع على بعد 1000-2000 أساس بعد الموضع الذي يفترض أنه سيضاف فيه الذيل عديد الأدينيلات. ولم يعرف إلا القليل عن عملية الإنهاء أو فيما إذا كان هناك عوامل إنهاء محددة مشابهة للعامل الجرثومي ρ. ومع ذلك، فمن المعروف أن النهاية ´3 من الرنا المرسال (mRNA) تنشأ بعد الانتساخ (Posttranscriptionally)، ويبدو أنها تتضمن خطوتين، فبعد أن يجتاز بوليميراز الرنا II منطقة الوحدة الانتساخية التي تُرمز

النهاية ´3 من المُنتَسخ، تقوم نوكلياز الرنا الداخلية (RNA-endonuclease) بقطع المُنتَسخ الأولي في موضع يقع على بعد 15 أساساً أسفل النهاية ´3 من التسلسل التوافقي (المتوالية التوافقية) AAUAAA الذي يبدو بأنه يقوم بدور إشارة شطر (Cleavage signal) في منتسخات حقيقيات النوى. وأخيراً، تجري إضافة عديد الأدينيلات في جِبْلَة النواة (Nucleoplasm) إلى النهاية ´3 المتشكّلة حديثاً كما هو مشروح لاحقاً.

معقد الانتساخ في حقيقيات النوى:

جهاز معقد يتألف من نحو 50 بروتيناً متميزاً يؤمن انتساخاً دقيقاً وقابلاً للتنظيم لجينات حقيقيات النوى. وتقوم إنزيمات بوليميراز الرنا (pol I و pol II و pol III لصفوف الجينات I و II و III على الترتيب) بانتساخ معلومات الطاق المرصاف من الدنا (DNA) إلى الرنا (RNA). ويجب أن تتعرف هذه البوليميرازات على موضع محدد في المِعزاز كي تبدأ بالانتساخ عند النوكليوتيد الملائم، إلا أن بوليميراز الرنا في حقيقيات النوى، وعلى عكس الحال في طليعيات النوى، غير قادر على التمييز ما بين متواليات المِعزاز والمناطق الأخرى من الدنا (DNA)، لذا تقوم بروتينات أخرى بتسهيل الارتباط النوعي لهذه الإنزيمات بالمِعزاز، وتشكيل معقد ما قبل الابتداء (Preinitiation complex). وتساعد مجموعة أخرى من البروتينات، هي المنشطات المشاركة (Coactivators)، على تنظيم معدل ابتداء الانتساخ عبر التآثر مع منشطات الانتساخ التي ترتبط بعناصر الدنا أعلى المجرى (انظر لاحقاً).



الشكل 8-39 : مخطط توضيحي يبين مناطق مراقبة الانتساخ في جين من الصنف II (منتج للرنا المرسال (mRNA)) في حقيقيات النوى. يمكن تقسيم مثل هذا الجين إلى مناطق البنيوية والتنظيمية نسبة إلى موضع ابتداء الانتساخ (السهم المتموج). وتحتوي منطقة الترميز على تسلسل (متوالية) الدنا (DNA) التي تنتسخ إلى الرنا المرسال (mRNA)، والتي تترجم في النهاية إلى بروتين. وتتألف المنطقة التنظيمية من صفين من العناصر يكون أحدها مسؤولاً عن التعبير الأساسي وله مكونان. يقوم المكون القريب (بشكل عام الصندوق TATA) بتوجيه بوليميراز الرنا إلى الموضع الصحيح (الدقة). ويقوم العنصر المبتدئ (Inr) الذي يخترق موضع البدء (+1) في المعازيز غير المحتوية على TATA بتوجيه البوليميراز إلى ذلك الموضع، أما المكون الآخر (العناصر أعلى المجرى) فيحدد تواتر الابتداء وأكثرها خضوعاً للدراسة الصندوق CAAT إلا أن هناك عدة عناصر أخرى (SPI، NFI، API... إلخ) يمكن أن تستعمل في جينات مختلفة. ويكون الصف الثاني من العناصر المنظمة العاملة بشكل مقرون مسؤولاً عن التعبير المنظم؛ ويتألف هذا الصف من عناصر تقوم بتعزيز أو كظم (إسكات) التعبير، ومن عناصر أخرى تتواسط الاستجابة للإشارات المختلفة كالهرمونات والصدمة الحرارية والمعادن والكيماويات. كما أن التعبير النوعي للنسيج يتضمن أيضاً متواليات نوعية من هذا النمط. ويشار بالأسهم ضمن الصناديق إلى اعتماد هذه العناصر على التوجه. فمثلاً، يجب أن يكون العنصر القريب (الصندوق TATA) بالاتجاه ´5 إلى ´3، أما العناصر أعلى المجرى فتعمل بشكل أفضل بالاتجاه ´5 إلى ´3؛ إلا أن العكس ممكن بالنسبة إلى بعضها. وبعض العناصر غير ثابتة الموضع نسبة إلى موقع بدء الانتساخ. وفي الواقع، يمكن لبعض العناصر المسؤولة عن التعبير المنظم أن تتوزع بين عناصر أعلى المجرى، أو أن توجد أسفل المجرى من موضع البداية.

تشكيل معقد الانتساخ الأساسي:

يرتبط المعقد المكون من العامل سيجما والبوليميراز في الجراثيم بشكل نوعي بالدنا (DNA) في منطقة المِعزاز. أما في جينات حقيقيات النواة فالحالة أكثر تعقيداً. وسنشرح عن الجينات من الصف II (تنسخ بواسطة pol II لإنشاء الرنا المرسال (mRNA)) كمثال على ذلك.

يتولى وظيفة العوامل سيجما في هذا الصف من الجينات عدد من البروتينات، ويتطلب الانتساخ الأساسي (Basal) ـ بالإضافة إلى البوليميراز II ـ عدداً من العوامل تُدعى A و B و D و E و F و H، ويتألف بعضها من عدة وحيدات مختلفة. ويرمَز لعوامل الانتساخ العامة (GTFs) هذه اصطلاحياً بالشكل TFIIA (عامل الانتساخ A للصف II من الجينات) أو TFIIB (عامل الانتساخ B للصف II من الجينات)...إلخ. ومن بين كل هذه العوامل ينفرد العامل TFIID بإمكانية الارتباط بمتواليات محددة من الدنا (DNA)، ويرتبط بالصندوق TATA. وكما هو موصوف لاحقاً، يتألف TFIID من بروتين رابط للصندوق TATA (TBP) ومن 10-8 من العوامل المرتبطة به (TAFs).

يرتبط TBP بصندوق TATA ضمن التلم الصغير للدنا (DNA) (معظم عوامل الانتساخ ترتبط بالتلم الكبير)، ويؤدي إلى انحناءة (أو فتلة) بمقدار 100° تقريباً لحلزون الدنا. ويُعتقد أن هذا الانحناء ييسر تآثر البروتينات المرتبطة بـ TBP مع المكوِّنات الأخرى لمعقد ابتداء الانتساخ، وربما مع عوامل مرتبطة بالعناصر أعلى (Upstream) المتوالية. ومع أن TBP محدد على أنه أحد مكونات معازيز الجينات من الصف الثاني، إلا أن حقيقة ارتباطَه مع مجموعة من TAFs متميزة ونوعية للبوليميراز تجعله مكوناً مهماً أيضاً في معقدات ابتداء انتساخ الجينات من الصفين الأول والثاني، حتى وإن لم تكن تحتوي على الصناديق TATA. ولم تحدد مواضع ارتباط TBP في هذه المعازيز بعد.

يؤدي ارتباط TBP إلى وصم مِعزاز معين ليُنْتَسَخ، وهي الخطوة الوحيدة في عملية التجميع التي تعتمد بشكل كامل على التآثر بين البروتين والدنا. ومن الخطوات المتنوعة اللاحقة في المختبر (In vitro) ارتباط TFIIB مع المعقد المكون من

TFIID والمعزاز ليتشكل معقد ثالثي (Ternary) مستقر يتوضع فيما بعد بدقة أكثر عند موضع ابتداء الانتساخ. ثم يجذب هذا المعقد الثالثي المعقد المكون من TFIIF و pol II إلى المِعزاز ويُقيده هناك. ويماثل TFIIF بنيويا ووظيفياً العامل سيجما الجرثومي، وهو ضروري لإيصال pol II إلى المِعزاز. كما يرتبط TFIIA بالمعقد TBP / المِعزاز ويثبته. ويسمح TFIIA للمعقد بالاستجابة للمنشطات، ربما بإزاحة الكاظمات. وتكون إضافةُ TFIIE و TFIIH هي الخطوة النهائية في تجميع معقد ما قبل الابتداء (Preinitiation complex "PIC"). ويبدو أن TFIIE يربط المعقد مع pol II/TFIIE، ثم يستنفر العامل TFIIH. وتؤدي كل من وقائع الارتباط هذه إلى زيادة حجم المعقد، بحيث أنه يغطي في النهاية 60 زوجاً من الأسس (من –30 وحتى +30 نسبة إلى +1 الذي هو النوكليوتيد الذي يبدأ الانتساخ عنده) (الشكل 39-9). ويصبح المعقد الآن جاهزاً وقادراً على الانتساخ الأساسي المبتدئ من النوكليوتيد الصحيح.

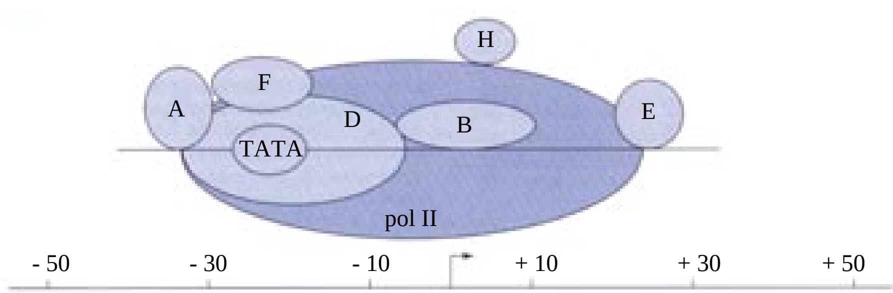
وفي الجينات التي تفتقر إلى الصندوق TATA، تكون العوامل نفسها بما فيها TBP مطلوبة. وفي مثل هذه الحالات، يقوم التسلسل المُبدِئ أو المشرع (Initiator sequence "Inr") بالاشراف على توضع المعقد لضمان الابتداء الدقيق للانتساخ. ويكون لبعض المعازيز كل من الصناديق TATA ومتواليات Inr والتي تعمل في بعض الحالات بشكل تآزري.

تنشط الفسفتة البوليميراز II:

يتألف إنزيم pol II في حقيقيات النوى من 14 وحيدة؛ وتكون أكبر وحيدتين، نحو 200 ك.دالتون، مماثلتين للوحيدات الجرثومية بيتا و (بيتا). وبالإضافة إلى زيادة عدد الوحيدات، تختلف pol II في حقيقيات النوى عن مثيلاتها في طليعيَّات النوى في كونها تملك مجموعة من التكرارات السباعية (تيروزين ــ سيرين ــ برولين ــ ثريونين ــ سيرين ــ برولين ــ سيرين) عند النهاية الكربوكسيلية لأكبر وحيدة في pol II. ويتكون هذا الحقل التكراري في النهاية الكربوكسيلية (CTD) من 26 وحدة تكرارية في الخمائر و 52 وحدة في خلايا الثدييات، كما يكون CTD ركيزة لعدة

كينازات، بما في ذلك المكون الإنزيمي العميم TFIIH، وموضع ارتباط لمجموعة كبيرة من البروتينات تعرف باسم Srb أو البروتين الوسيط. كما يتآثر CTD أيضاً مع إنزيمات معالجة الرنا (RNA processing)؛ وهذا ما قد يساهم في إضافة ثمالات الأدينيليل إلى الرنا. ويزيد مكون آخر، هو TFIIE، نشاط الكيناز في TFIIH. ويُنَشَّط الإنزيم pol II عندما يُفسفت على ثمالتي السيرين والثريونين. ويتعطل عند نزع فسفات من CTD. ولا يستطيع إنزيم pol II المفتقر للذيل CTD تنشيط الانتساخ مما يوضح أهمية هذا الحقل.

ويرتبط pol II مع بروتينات أخرى لتشكيل معقد عميم الإنزيم؛ ففي الخميرة ترتبط 9 نواتج جينية على الأقل مع CTD يُرمَز لها أي كاظم بوليميراز الرنا Srb B (suppressor of RNA polymerase B)، وتكون البروتينات Srb (أو الوسائط كما تُدعى أيضاً) أساسية للانتساخ بالبوليميراز II رغم أن دورها الدقيق في هذه العملية لم يحدد بعد.



الشكل 39-9 : معقد الانتساخ الأساسي في حقيقيات النوى. يبدأ تشكيل معقد الانتساخ الأساسي عند ارتباط TFIID بالصندوق TATA. ويوجه هذا تجميع المكونات الأخرى المختلفة عن طريق التآثرات بين الروتينات وكل من الدنا (DNA) والبروتينات الأخرى. ويغطي المعقد الكامل الدنا (DNA) من الموضع -30 حتى +30 نسبة إلى موضع البدء (الموضع +1 المبين بواسطة السهم المعقوف).

دور منشطات الانتساخ والمنشطات المساعدة:

كان يعتقد أن TFIID هو بروتين واحد، إلا أن مجموعة من الدلائل قادت إلى الاكتشاف المهم بأن TFIID هو في الحقيقة معقد مؤلف من TBP وثمانية عوامل مرتبطة به TAFs. وقد كان الدليل الأول على أن TFIID أكثر تعقيداً من أن يكون مجرد جزيء TBP هو أن الأخير يرتبط بجزء من الدنا (DNA) بطول 10 أزواج من الأسس قبل صندوق TATA مباشرة، بينما كان TFIID يغطي جزءاً مكوناً من نحو 35 زوجاً من الأسس أو أكبر (الشكل 39-9). والدليل الثاني هو كون الكتلة الجزيئية لـ TBP هي نحو 20-40 ك. دالتون (حسب الأنواع)، بينما كتلة المعقد TFIID تبلغ نحو 700 ك.دالتون. وأخيراً، وربما الأكثر أهمية، يدعم TBP الانتساخ الأساسي، وليس الانتساخ المتزايد الذي توفره منشطات معينة مثل Sp1 عند ارتباطه بصندوق GC. بينما يقوم TFIID بالمقابل بدعم الانتساخ الأساسي والمُعزَّز بواسطة Sp1 أو Oct1 أو CTF أو ATF...إلخ (الشكل 39-3)؛ وتكون TAFs أساسية لهذا الانتساخ المُعزَّز بالمنشطات. ومن غير الواضح بعد ما إذا كان هناك عامل TFIID واحد أو أكثر تختلف عن بعض بمتمماتها من TAFs المرتبطة بالبروتين TBP. ومن الممكن تصور أن مجموعات مختلفة من تواليف TAFs مع TBP قد ترتبط بمعازيز مختلفة؛ ونشرت تقارير حديثة أن ذلك قد يكون مسؤولاً عن التنشيط الانتقائي الملاحظ في المعازيز المختلفة، وكذلك عن اختلاف قوة بعض المعازيز. وبما أن TAFs مطلوبة لقيام المنشطات بعملها، لذا فهي كثيراً ما تُدعى المنشطات المساعدة (Coactivators).

نستنتج مما سبق أن هناك ثلاثة صفوف من عوامل الانتساخ التي تساهم في تنظيم جينات الصف II وهي: العوامل الأساسية والمنشطات المساعدة والمنشطات ـ الكاظمات (الجدول 39-4). وهناك سؤال ذو أهمية كبيرة، وهو كيف تتآثر هذه الصفوف من البروتينات للتحكم بموضع الانتساخ؟

العامل	المتوالية الاتفاقية (1)	العنصر
TBP	TATAAA	صندوق TATA
NF-y*, C/EBP*	CCAATC	صندوق CAAT
Sp 1	GGGCGG	صندوق GC
MyoD NF 1*	CAACTGAC T/CGGA/CN$_5$GCCAA	
Oct-1,2,4,6,*	ATGCAAAT	المثمن Ig
ATF*. Fos, Jun	TGAG/CTC/AA	API
SRF	GATGCCATA	الاستجابة المصلية
HSF	(NGAAN)$_3$	صدمة الحرارة

الجدول 39-3 : بعض عناصر التحكم بالانتساخ ومتوالياتها الاتفاقيَّة
والعوامل التي ترتبط بها في جينات الثدييات المنتسخة بالبوليميراز II.
وتشتمل القائمة الكاملة على عشرات الأمثلة الأخرى. وتعني النجمة أن هناك
عدة أفراد من هذه الفصيلة.
(1) التسلسلات من اليسار (5) إلى اليمين (3) .

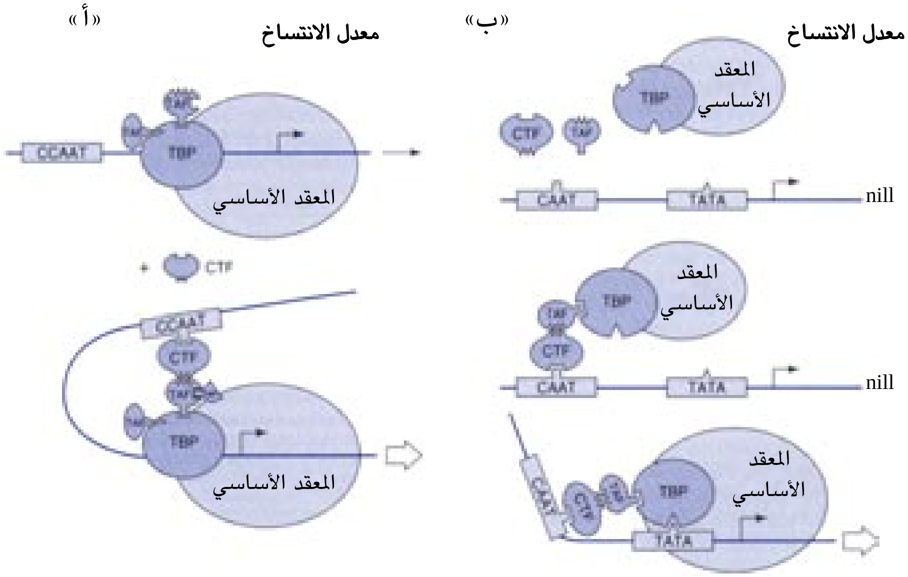
هناك نموذجان يشرحان تجميع معقد ما قبل الابتداء (PIC):

يعتمد تشكيل PIC الموصوف سابقاً على الإضافة المتتابعة لمكونات منقاة في تجارب مختبرية. ومن الملامح الأساسية لهذا النموذج أن التجميع يحدث على مرصاف الدنا؛ ونتيجة لذلك يُعتقد أن منشطات الانتساخ ـ التي تتصف بحقول مستقلة لربط الدنا وأخرى للتنشيط (انظر الفصل 41) ـ تقوم بوظيفتها عبر تنشيط تشكيل PIC أو وظيفته. وتبدو المنشطات المساعدة TAF بشكل عوامل رابطة تؤمن

التواصل بين المنشطات في الأعلى (Upstream) والبروتينات المرتبطة مع pol II أو المكونات العديدة الأخرى للمركب TFIID. وقد تم ايضاح هذه النظرة، التي تفترض أن هناك تجميعاً تدريجياً (خطوة بخطوة) للمعقد PIC مُثاراً بالتآثرات المختلفة بين المنشطات والمنشطات المساعدة ومكونات PIC، في الرسم A من (الشكل 39-10). وقد دعمت هذا الطراز الملاحظات التي تبيَّن فيها أن الكثير من هذه البروتينات تستطيع الارتباط فعلياً ببعضها بعضاً في المختبرات.

وتوحي أدلة حديثة باحتمال وجود آلية أخرى لتشكيل PIC وتنظيم الانتساخ: أولاً، توجد معقدات كبيرة من GTFs وpol II في الخلايا يمكنها الارتباط بمعزاز ما وبخطوة واحدة؛ وثانياً، يقارب معدل الانتساخ الحاصل عند إضافة المَنشطات لتراكيز محددة من عميم الإنزيم pol II المعدلَ الناجم عن زيادة تركيز هذا العميم في غياب المنشطات؛ وهذا يعني أن المنشطات بحد ذاتها ليست ضرورية بالمطلق لتشكيل PIC. وقد قادت هذه الملاحظات إلى فرضية «الاستنفار» أو «الاستدراج» (Recruitment hypothesis) التي اختُبرت الآن تجريبياً. ويمكن القول ببساطة إنّ دورَ المنشطات ومساعداتها قد يكون مجرد استنفار PIC المتشكل مسبقاً نحو المِعزاز. ويمكن الاستغناء عن شرط حقل التنشيط عند تثبيت مكون من TFIID أو عميم الإنزيم pol II صنعياً، باستخدام طرق الدنا المأشوب، مع حقل ارتباط الدنا (DBD) في المنشط. ويؤدي هذا الإرساء، من خلال المكون DBD في جزيء المنشط، إلى بنية مؤهَّلة انتساخياً، وليس هناك متطلب آخر لحقل التنشيط من المنشِّط. وفي ظل هذه النظرة، يكون دور حقول التنشيط و TAFs هو تشكيل تجمع يوجه PIC المتشكل سابقاً إلى المِعزاز؛ وهي لا تساعد في تجميع PIC (انظر الرسم B، الشكل 39-10). وتعين كفاءة عملية الاستدراج هذه معدل الانتساخ عند معزاز معين.

تعدل الهرمونات ـ والمستفعلات (Effectors) الأخرى التي تنقل المعلومات المرتبطة بالوسط خارج الخلايا ـ التعبير الجيني بواسطة التأثير على عملية تجميع معقدات المنشطات ومساعدات المنشطات ونشاطها، وكذلك، التشكيل اللاحق للمعقد PIC عند مِعزاز الجينات الهدف (انظر الفصل 44). وتؤمن المكونات العديدة المساهمة مجموعة من التواليف (Combinations) المحتملة، ومن ثم مجالاً من النشاط الانتساخي لجين معين.



الشكل 39-10 : نموذجان لتجميع معقد الانتساخ النشيط ولكيفية تعزيز المنشطات ومساعدات المنشطات لمعدل الانتساخ. يظهر في الشكل البروتين TBP بالشكل البيضوي الصغير الذي يحتوي على TFIID، وهناك أيضاً الشكل البيضوي الكبير الذي يحتوي على كل مكونات معقد الانتساخ الأساسي المبينة في الشكل 39-9 (أي RNAPII و TFIIA و TFIIB و TFIIE و TFIIF).

الرسم «أ»: يتجمع معقد الانتساخ الأساسي على المعزاز بعد ارتباط الوحيدة TBP من TFIID مع الصندوق TATA، وتتحد عدة عوامل TAF (المنشطات المساعدة) مع TBP. وفي هذا المثال، يظهر منشط الانتساخ CTF مرتبطاً بالصندوق CAAT، ومشكلاً (ناقص)

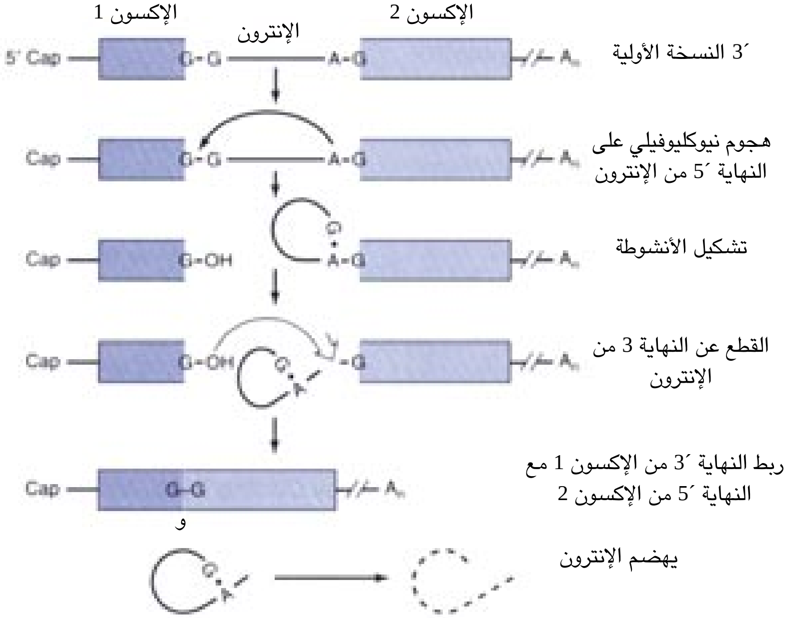
الرسم «ب»: نموذج الاستنفار أو الاستدراج. يرتبط منشط الانتساخ CTF مع الصندوق CAAT، ويتأثر مع مساعد المنشط (TAF في هذه الحالة). يسمح هذا بالتأثير مع معقد انتساخ أساسي متشكل سابقاً ويتضمن TBP الذي يمكنه الآن الارتباط بالصندوق TATA، وبذلك يغدو المعقد المتجمع نشيطاً تماماً.

المكونات النوعية	الآليات العامة
TBP، TFIIA و B و E و G و F وH	المكونات الأساسية
TAFs	المنشطات المساعدة
SP1، ATF، CTF، AP1... الخ	المنشطات

الجدول 39-4 : الصفوف الثلاثة لعوامل الانتساخ في جينات الصف الثاني.

توجد عناصر الدنا العاملة بالشكل المقرون داخل جينات الصف الثالث:

يتعرف بوليميراز الرنا III المعتمد على الدنا (DNA) المسؤول عن انتساخ جينات الرنا النقال (tRNA) وجينات الرنا (RNA) ذي الوزن الجزيئي المنخفض (انظر الفصل 37) على المِعزاز الموجود ضمن الجين المراد التعبير عنه بدلاً من أن يكون أعلى نقطة ابتداء الانتساخ. وفي حال جينات الرنا النقال (tRNA) لحقيقيات النواة، يوجد قالَبان (Blocks) داخليان منفصلان من المتواليات (A و B) يعملان كمِعزاز داخل الجين. وتوجد المتواليات الكائنة ضمن القالَبين A و B في جزيء الرنا النقال (tRNA) الناضج ضمن مناطق مصانة جيداً تساهم في تشكيل الذراع D والذراع TΨC على الترتيب (الشكل 37-11). ولقد تبين من تداول بنية جينات الرنا النقَّال (tRNA) أنه من أجل وظيفة مُثلى للمِعزاز يجب أن تكون المسافة بين A و B هي 30-40 زوجاً من الأسس، وأن نقطة ابتداء الانتساخ تقع بين 10 و 16 زوجاً نت الأسس أعلى القالب A. وأما من ناحية جين الرنا 5S، والتي تنتسخ أيضاً بواسطة بوليميراز الرنا III، فإن هناك على ما يبدو عاملاً بروتينياً انتساخياً نوعياً يرتبط بالمِعزاز داخل الجيني لذلك الجين، وربما يتآثر مع جزيء بوليميراز الرنا III لتوجيه مواقعه التحفيزية إلى نقطة ابتداء الانتساخ من الدنا (DNA). وربما هناك آلية مشابهة تستخدم عوامل انتساخ نوعية ذات تأثير مفروق تشترك في انتساخ جينات الرنا النقال (tRNA).



الشكل 39-11 : معالجة المنتسخ الأولي (hnRNA) إلى الرنا المرسال. تقطع النهاية 5´ (في الأيسر) من الإنترون (↓) في هذا المنتسخ الافتراضي وتشكل الأنشوطة بين جوانين (G) النهاية 5´ للإنترون والأدينين (A) قرب النهاية 3´ من المتوالية التوافقية UACUAAC التي تدعي موضع التفرع. والثمالة A الأقرب للنهاية 3´ هي التي تشكل الرابطة 5´-2´ مع G. ثم تقطع النهاية 3´ (في الأيمن) من الإنترون (⇓)؛ وهذا ما يحرر الأنشوطة التي تهضم ويؤدي بالنتيجة إلى ربط الإكسون 1 مع الإكسون 2 عند ثمالات الجوانين (G).

تعالج جزيئات الرنا عادة قبل أن تصبح وظيفية:

تبدأ ترجمة (Translation) المُنتسخات الأولية للجينات المرمِّزة للرنا المرسال (mRNA) إلى بروتينات حتى قبل اكتمال انتساخها في الكائنات الحية طليعية النوى. ويفترض أن ذلك يحدث لأن موقع الانتساخ يكون غير متحاوز (Compartmentalized) ضمن النواة كما هي حال الأحياء من حقيقيات النواة؛ لذلك يقترن الانتساخ بالترجمة في خلايا طليعيات النواة. ونتيجة لذلك، تخضع جزيئات

الرنا المرسال (mRNA) في طليعيات النواة لتعديل ومعالجة قليلين قبل أن تقوم بوظيفتها المقصودة في تخليق البروتينات. ويجري انتساخ جزيئات الرنا الريباسي (rRNA) والرنا النقال (tRNA) في طليعيات النوى ضمن وحدات أطول بكثير من الجزيء النهائي. وفي الحقيقة، تحتوي الكثير من وحدات انتساخ الرنا النقَّال (tRNA) على أكثر من جزيء؛ لذلك، ففي طليعيات النواة تجب معالجة هذه الجزيئات الطلائعية من الرنا الريباسي (rRNA) والرنا النقَّال (tRNA) من أجل تشكيل الجزيئات الوظيفية الناضجة.

تخضع جميع النسخ الوليدة للرنا (RNA) بصفوفه الثلاث في حقيقيات النواة، تقريباً، لمعالجة (Processing) واسعة تمتد من زمن تخليقها حتى زمن قيامها بوظيفتها النهائية، سواء أكانت على شكل الرنا المرسال (mRNA) أو كجزيئات بنيوية كالرنا الريباسي (rRNA أو 5S RNA) أو الرنا النقال (tRNA). وتجري المعالجة بشكل أولي في النواة؛ وتتضمن عملية المعالجة الشطر إلى جزيئات أصغر بالحل النووي واقتران تفاعلات الحل النووي والربط (Nucleolytic and ligation) تضفير (Splicing) الإكسونات. ومن الواضح أن 50-75 ٪ من الرنا (RNA) النووي في خلايا الثدييات لا يشارك في جميعة الرنا المرسال (mRNA) الموجودة في الهيولى. وهذا الضياع في الرنا (RNA) النووي أكبر بكثير مما يمكن تبريره عن طريق خسارة المتواليات الاعتراضيَّة فقط (الإنترونات) (انظر لاحقاً). لذا فإن الوظيفة الدقيقة للنسخ التي تبدو فائضة في نواة الخلية في الثدييات غير معروفة.

تتخلل الإنترونات مناطق الترميز (الإكسونات) في معظم جينات حقيقيات النوى:

تتخلل الأجزاء المرمِّزة للأحماض الأمينية (الإكسونات) في الكثير من الجينات متواليات مبعثرة طويلة من الدنا (DNA) لا تساهم في المعلومات الوراثية التي تُترجم في النهاية إلى تسلسل (متوالية) من الأحماض الأمينية لجزيء بروتيني (انظر الفصل 38). وفي الواقع، إن هذه المتواليات تقطع فعلاً المنطقة المرمزة البنيوية؛ وتوجد هذه المتواليات الاعتراضيَّة (Intervening sequences) (الإنترونات) ضمن

معظم الجينات في حقيقيات النواة العليا وليس جميعها. وتحتوي النسخ الأولية للجينات البنيوية على رنا (RNA) متمِّم للمتواليات المبعثرة؛ إلا أن متواليات الإنترونات هذه تنزع من النُّسج، وتُضفر (Spliced) إكسونات النسخ معاً بشكل مناسب في النواة قبل أن يظهر جزيء الرنا المرسال (mRNA) في الهيولى ليُصار إلى ترجمته (الشكلان 39-11 و 39-12). ومن الفرضيَّات أن الإكسونات، التي غالباً ما ترمِّز حقل نشاط في البروتين، هي وسيلة لتعديل المعلومات الوراثيَّة.

تنتزع الإنترونات وتضفَّر الإكسونات:

لقد أصبحت تلك الآليات التي يجري بواسطتها نزع الإنترونات من النسخ الأولية في النواة، وربط الإكسونات لتشكيل جزيء رنا مرسال (mRNA)، ونقل جزيء الرنا المرسال إلى الهيولى واضحة. فلقد ذكرت أربع آليات مختلفة لتفاعلات التضفير سنصف فيما يلي أكثرها استخداماً في خلايا حقيقيَّات النوى.

بالرغم من أن تسلسل النوكليوتيدات في إنترونات المُنتسخات المختلفة لحقيقيات النواة (حتى تلك الموجودة في منتسخ واحد) متغاير جداً، إلا أن هناك متواليات مصانة إلى حد معقول في كل من مَواصل الإكسون ـ إنترون (مَواصل التضفير (Splice junctions))، وفي موضع التفرع (Branch site) الذي يوجد على بعد 20-40 نوكليوتيداً أعلى موضع التضفير ´3 (انظر المتواليات الاتفاقية في الشكل 39-12). وتتحمل البنية الخاصة المُسماة جسيم التضفير (Spliceosome) مسؤولية تحويل المنتسخ الأولي إلى رنا مرسال (mRNA). ويتألف هذا الجسيم من المنتسخ الأولي وخمسة جزيئات رنا نووية صغيرة (snRNA) (U1 و U2 و U5 و U4/U6) وعدد من البروتينات يزيد عن الخمسين. وتشكل هذه معاً معقداً بروتينياً نووياً صغيراً (Small nucleoprotein “snRNP”) يُدعى أحياناً سنارب (Snurp). ويُعتقد أن هذه المعقدات توجه شُدف الرنا نحو تفاعلات التضفير الضرورية. ويبدأ تفاعل التضفير بقطع عند مَوصل الإكسون ´5 (معط أو أيسر) بالإنترون (الشكل 39-11). ويتحقق ذلك بهجوم أليف للنوى من قبل ثمالة الأدينيليل في متوالية موضع التفرع المتوضعة أعلى النهاية ´3 تماماً من هذا الإنترون. وتشكل النهاية الحرة ´5 عندئذ عروة أو

أنشـوطة (Lariat) مرتبطة برابطة ´5 - ´2 فُسـفـودَايسـتـرية غـير مـألوفـة مع A في تسلسـل مــوضـع التــفــرع PyNPyPyPuAPy (الشكل 39-12). وتتــوضـع ثمــالة الأدينيليل هذه بشكل نموذجي على بعـد 28-37 نوكليـوتيـداً أعلى النهـاية ´3 من الإنترون المنزوع. ويحدد موضع التفرع موضع التضفير ´3. ويحدث قطع ثان في المَوصل بين الإنترون والإكسـون ´3 (متـعط أو أيمن). وفي التـفـاعل الثـاني الناقل للأسترة، يهاجم الهيدروكسيل ´3 للإكسـون العلوي الفسـفات ´5 عند الحد السفلي لارتباط الإكسون والإنترون وتتحـرر الأنشوطة (التي تضم الإنترون) وتُحلمَه ثم يُربط الإكسونان ´5 و ´3 لتشكيل متوالية متواصلة.

ويتطلب تشكيل البنى والمتوسطات المختلفة وجود snRNAs والبروتينات المرافقة بحيث يرتبط U1 أولاً، وذلك من خلال الازدواج مع الحد بين الإكسون ´5 والإنترون. ويرتبط بعد ذلك U2 بالازدواج مع موضع التفرع مما يكشف الثُمالة النوكليوفيلية A ثم يرتبط المعقد الثلاثي المؤلف من U5 والاتحاد U6/U4 مع الجسيم التضفيري. ويؤدي فك الالتفاف المتواسط ببروتين معتمد على الأتب (ATP) إلى إضطراب المعقد U6/U4 متزاوج الأسس فيتحـرر U4 ويصبح U6 قادراً على التـآثر مع U2 ثم مع U1. تُقَرِّب هذه التـآثرات موضع التضفير ´5 ونقطة التفرع بثمالتها النشيطة (A) وموقع التضفير ´3. ويعزِّز هذا التراصف بواسطة U5. كما تؤدي هذه العمليَّة إلى تشكيل بنيـة العروة أو الأنشـوطة. وبعـد ذلك، يجـري شطر النهـايتين، ربما بواسطة المعقد U6/U2. ويكون U6 ضرورياً بشكل خاص، لأن الخمائر التي تفتقر إلى هذا البـروتين النووي الصـغيـر غيـر قابلة للعيش. ومن الهـام ملاحظة أن الرنا (RNA) يقوم بدور العامل المُحفِّز.

يُعاد التسلسل السابق في الجينات التي تحتوي على عدة إنترونات. وفي مثل هذه الحالات، هناك نمط معين محدد متبع لكل جين، ولا تنتزع الإنترونات بالضرورة بالتسلسل 1 ثم 2 ثم 3... الخ.

لقد أصبحت العلاقة ما بين hnRNA والرنا المرسال (mRNA) الناضج الموافق في خلايا حقيقيات النواة واضحة الآن؛ حيث أن جزيئات hnRNA هي المنتسخات الأولية، بالإضافة إلى نواتج معالجتها المبكرة، والتي بعد إضافة القلنسوات وذيل

عديد الأدينيلات لها ونزع الأجزاء الموافقة للإنترونات، تنقل إلى الهيولى كجزيئات رنا مرسال (mRNA) ناضجة.



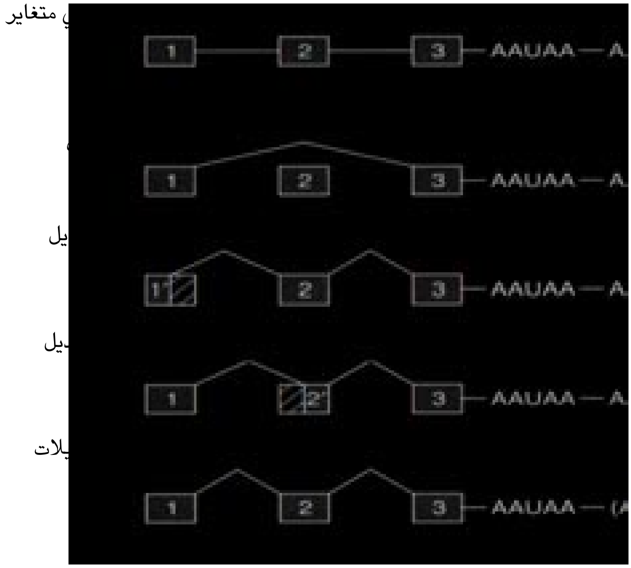
الشكل 39-12 : المتواليات (التسلسلات) الاتفاقية عند مواصل التضفير. تظهر في الشكل التسلسلات 5´ (المعطي أو الأيسر) و3´ (المتلقي أو الأيمن)؛ كما تظهر المتوالية الاتفاقية في الخميرة (UACUAAC) لموضع التفرع. أما في خلايا الثدييات فتكون المتوالية الاتفاقية هي PyNPyPyPuAPy حيث Py هو البيريميدين و Pu هو البورين و N هو أي نوكليوتيد. ويكون موضع التفرع متوضعاً على بعد 20-40 نوكليوتيداً أعلى الموضع 3´.

يُهيِّئ التضفير البديل جزيئات مختلفة من الرنا المرسال:

إن معالجة جزيئات hnRNA هي موضع لتنظيم التعبير الجيني. وتنجم النماذج المختلفة من التضفير عن آليات تَحَك تطورية وتكيفية نوعية في النسج. وكما ذُكر أعلاه، فأحداث التضفير تجري بطريقة تراتبية خاصة بكل جين. وتمنح حقيقة أن هناك بنية معقدة جداً من الرنا (RNA) تتشكل خلال التضفير وأن هناك العديد من البروتينات وجزيئات الرنا (RNA) تساهم في العملية، تمنح فرصاً عديدة لتغيير هذا النمط التراتبي وتوليد جزيئات مختلفة من الرنا (RNA) المرسال. وبالطريقة نفسها، ينجم عن المواقع البديلة للإنهاء والشطر وإضافة الذيل عديد الأدينيليل شيئاً من التغاير في جزيئات الرنا (RNA) المرسال. ويعرض (الشكل 39-13) بعض الأمثلة على ما ذكرناه، وكلها تحدث في الطبيعة.

يمكن أن يؤدي التضفير الخاطئ إلى حدوث المرض؛ حيث أن شكلاً واحداً على الأقل من الثلاسيميّة بيتا (المرض الذي يكون فيه جين الجلوبين بيتا قاصر التعبير)

ينجم عن تبدل نوكليوتيدي في موصل الإكسون ـ إنترون، فَيُعاق نزع الإنترون مما يؤدي إلى تناقص تخليق السلسلة β أو انعدامه. ويكون هذا نتيجة لكون إطار القراءة الطبيعي الخاص بترجمة الرنا المرسال (mRNA) مبتوراً. ومن الواضح أن حدوث عيب في هذه العملية الأساسية (التضفير) يؤكد على أهمية الدقة التي يجب أن تحصل بها هذه العملية.



الشكل 33 ـ 15 : آليات المعالجة البديلة لجزيء الرنا المتغاير (hnRNA). يتضمن هذا النوع من معالجة الرنا (RNA) تضمين الإكسونات أو استبعادها الانتقائيين واستعمال المواضع البديلة المعطية ´5 أو المتلقية ´3 واستعمال مواضع مختلفة لإضافة عديد الأدينيليل.

يوفر استخدام المعازيز المختلفة (البديلة) شكلا من التنظيم:

يمكن أن يتحقق تنظيم التعبير الجيني النوعي للأنسجة من خلال عناصر التحكم في المِعزاز أو باستعمال المعازيز البديلة. ويتألف جين الجلوكوكيناز (GK) من 10 إكسونات تعترضها 9 إنترونات. ويكون تسلسل الإكسونات 2-10 متماثلاً

في الكبد وخلايا بيتا البنكرياسية، الأنسجة الأساسية التي يعبر فيها جين GK عن نفسه. ويُنَظَّم التعبير عن جين GK بشكل مختلف تماماً (بمعزازين مختلفين) في هذين النسيجين. ويتوضع المِعزاز الكبدي والإكسون 1L قرب الإكسونات 2-10، ويُربَط الإكسون 1L مباشرة إلى الإكسون 2. وبالمقابل، يتوضع مِعزاز الخلايا بيتا البنكرياسية على بعد 30 كيلو أساس أعلى التسلسل. وفي هذه الحالة، يربط الحد 3´ من الإكسون 1β بالحد 5´ من الإكسون 2. ويُبعَد المِعزاز الكبدي والإكسون 1L ويُنزع خلال التضفير (انظر الشكل 39-14).

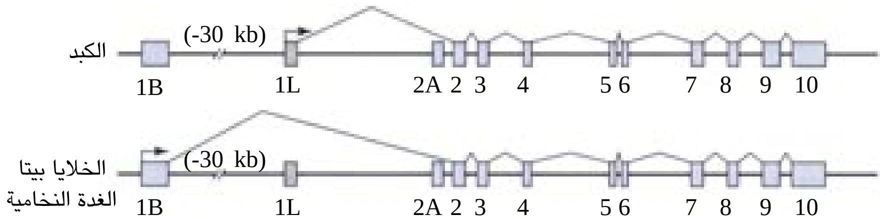
تعالج جزيئات الرنا الريباسي بدءاً من طليعة كبيرة:

تُنتسخ جزيئات الرنا الريباسي (rRNA) الثلاثة في خلايا الثدييات كجزء من طليعة كبيرة (الشكل 39-15) تُعالج في النوية (Nucleolus) لتعطي المكون الرناوي اللازم لوُحيدات الجسيم الريباسي الذي يوجد في الهيولى. وتوجد جينات الرنا الريباسي (rRNA) في نويات خلايا الثدييات بأعداد تصل إلى مئات النسخ في كل خلية. وهذا العدد الكبير من الجينات ضروري لتخليق نسخ كافية من كل أنماط الرنا الريباسي (rRNA) لتشكيل عدد من الريباسات يبلغ 10^7 ريباسة لازمة لكل تنسخ خلوي. وفي حين يمكن ترجمة جزيء واحد من الرنا المرسال (mRNA) إلى 10^5 جزيء بروتيني، موفرة بذلك تضخيماً كبيراً، فإن rRNAs هي نواتج نهائية. وهذا النقص في التضخيم يتطلب وجود ذاك العدد الكبير من الجينات.

تُنتسخ جينات الرنا الريباسي (rRNA) كوحدات تُرمِّز كل منها (من 5´ إلى 3´) جزيئات الرنا الريباسي 18S ثم 5.8S ثم 28S. والنسخة الأولية هي جزيء 45S يُمَثيَل بشكل كبير في النوية. وتحتوي الشدفة المفترض أنها ستصبح الجزيء 28S ضمن الطليعة 45S على 65 ريبوز مُمَثيَل وخمسة أسس مُمَثيَلة. مع العلم أن المثيلة تتم فقط لتلك الأجزاء من الطليعة التي ستصبح جزيئات rRNA ثابتة. وتُعالج الطليعة 45S بالحل النووي، إلا أن إشارات المعالجة هذه تكون متميزة بشكل واضح عن تلك التي في hnRNA. ولذلك فإنه يتواسط معالجة جزيئات rRNA سلسلة من التفاعلات الحالة النووية الداخلية (Endonucleolytic) والخارجية

(Exonucleolytic) بدلاً من التفاعلات المُحفزة بالرنا (RNA) المساهمة في تشكيل الرنا المرسال (mRNA) (الشكل 39-11).

يتدرك نصف المُنتَسخ الأولي الأصلي تقريباً بواسطة هذه التفاعلات الحالة النووية، كما هو مبين في (الشكل 39-15). وخلال معالجة rRNA، تحدث مَثْيلة أخرى؛ وأخيراً، يجري في النوية التجمع الذاتي لسلاسل 28S مع نحو 50 من البروتينات الريباسية لتشكيل الوُحَيْدة الريباسية الأكبر (60S). كما أن جزيء الرنا الريباسي 5.8S، والذي يتشكل أيضاً من الطليعة 45S في النوية، يصبح جزءاً متمماً للوُحَيْدة الريباسية الأكبر. وأما الوُحَيْدة الريباسية الأصغر (40S) فتنتج من ارتباط نحو 30 من البروتينات الريباسية الملائمة مع جزيء الرنا الريباسي 18S.



الشكل 39-14 : استعمال المعزاز البديل في جينات الجلوكوكيناز في الكبد وخلايا بيتا البنكرياسية. يتجز تنظيم تفريقي لجين الجلوكوكيناز (GK) باستعمال معازيز نوعية للنسج. ويتوضع معزاز هذا الجين في الخلية بيتا مع الإكسون 1B على بعد نحو 30 كيلو زوجاً من الأسس أعلى المعزاز مع الإكسون 1L في الجين الكبدي. ويكون لكل معزاز بنية منفردة، وينظم بشكل مختلفة. وتكون الإكسونات 2-10 متماثلة في الجينين، كما يكون لبروتينات GK المرمزة بواسطة الرنا المرسال في الكبد والخلايا الخصائص الحركية نفسها.

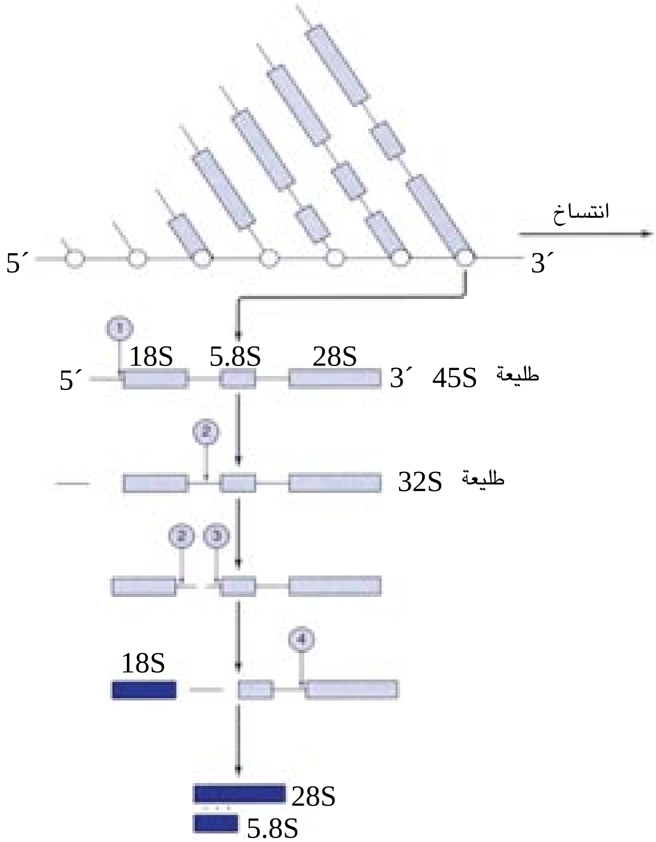
يمكن لجزيئات الرنا أن تحَوّر بشكلٍ واسع:

تعدل عدة أنماط من جزيئات الرنا بعد انتساخها. وتشمل هذه التعديلات إضافة القلنسوة إلى النهاية ´5 وإضافة النوكليوتيدات إلى النهاية ´3 من الرنا المرسال (mRNA) وتعديل نوكليوتيدات الرنا النقال (tRNA).

يحور الرنا المرسال عند النهايتين ´5 و ´3:

تحتوي جزيئات الرنا المرسال (mRNA) في الثدييات على بنية القلنسوة (وقوامها 7– ميثيل الجوانوزين) عند النهاية ´5، ويحتوي معظمها على ذيل عديد الأدينيليل عند النهاية ´3. وتضاف بنية القلنسوة إلى النهاية ´5 لطلائع الرنا المرسال (mRNA) المنتسخة حديثاً في النواة قبل نقل جزيء الرنا المرسال (mRNA) إلى الهيولى. والقلنسوة ´5 ضرورية لابتداء ترجمة النهاية ´5 في الرنا المرسال وحمايتها من هجوم النوكلياز الخارجية ´5 ؟ ´3. وتجري المثيلة الثانوية لجزيئات الرنا المرسال (mRNA) على الهيدروكسيل 2 والنتروجين 2 من ثمالة الأدينيليل) بعد ظهور جزيء الرنا المرسال (mRNA) في الهيولى.

وتجري إضافة الذيل عديد الأدينيليل إلى النهاية ´3 من جزيئات الرنا المرسال (mRNA) في خطوة معالجة تتم بعد الانتساخ. ويُشطر الرنا المرسال أولاً نحو 20 نوكليوتيداً أسفل (بعد) متوالية التعرُّف AAUAA. ويقوم إنزيم آخر، وهو بوليميراز البولي (A)، بعد ذلك بإضافة ذيل قصير عديد الأدينيليل يُمد لاحقاً حتى نحو 200 ثمالة أدينيليل. ولم تعرف وظيفة ذيل عديد الأدينيليل بعد، إلا أنه يبدو أنه يحمي النهاية ´3 للرنا المرسال (mRNA) من هجوم النوكلياز الخارجية ´3 ← ´5. وعلى أية حال، لا يحدد وجود الذيل أو غيابه ما إذا كان الجزيء الطليعي في النواة سوف يظهر في الهيولى، ذلك أنه ليس كل جزيئات hnRNA ذات الذيل عديد الأدينيليل تساهم في الرنا المرسال (mRNA) الهيولي، كما لا تحوي كلّ جزيئات الرنا المرسال (mRNA) الهيولية الذيل عديد الأدينيليل (الهيستونات هي أفضل مثال). وتستطيع العمليات الهيولية في خلايا الثدييات أن تقوم بإضافة بعض ثمالات الأدينيليل إلى الذيول عديدة الأدينيليل أو نزعها منها، الأمر الذي يترافق مع تبدل في ثباتية الرنا المرسال (mRNA) واستقراره. يبقى حجم جزيئات الرنا المرسال (mRNA) الهيولية حتى بعد نزع الذيل عديد الأدينيليل أكبر بكثير من الحجم اللازم لترميز البروتين النوعي الذي هو مرصافه (أحياناً 2 أو 3 أضعاف). وتوجد النوكليوتيدات الإضافية هذه في المناطق غير المترجمة (غير المُرمِّزة) في الاتجاهين ´5 و ´3 من منطقة الترميز، وعادة ما تكون أطول في النهاية ´3. وما تزال الوظيفة الدقيقة لهذه المتواليات غير معروفة، إلا أنها تساهم في معالجة الرنا ونقله وتَدَرُّكُه وترجمته.



الشكل 39-15 : ترسيم لمعالجة الرنا الريباسي من جزيئات طليعية كبيرة من الرنا. يكون للمنتسخ الأولي حجم قدره 45S وطول يبلغ نحو 13000 نوكليوتيد، وهو يخلق بالاتجاه من 5´ إلى 3´ بواسطة بوليميراز الرنا I (الدوائر الفاتحة). وتتسخ الجينات المتجمعة بشكل كثيف بمعدل سريع، ولذلك تماثل جزيئات الرنا المتطاولة (التي ترى بسهولة في محضرات الكروماتين) الأشجار في الصورة المجهرية الإلكترونية في (الشكل 39-4). وتتشكل النواتج النهائية من خلال مجموعة من التفاعلات المتواسطة بالنوكلياز الداخلية والخارجية بما في ذلك إنزيمات النوكلياز الريبية النوعية للرنا الريباسي. ويوضح التسلسل المحتمل لهذه التفاعلات بالدوائر المرقمة والأسهم، كما تظهر الأحجام والأطوال النوكليوتيدية للنواتج 18S و 5.8S و 28S. ويضم الرنا الريباسي 18S إلى نحو 30 بروتيناً لتشكل الوحيدة الريباسية الصغيرة. كما يتحد الرنا الريباسي 28S و 5.8S مع نحو 50 بروتيناً لتشكل الوحيدة الكبيرة.

تصحيح الرنا يغير الرنا المرسال بعد الانتساخ:

تنص المُسَلَّمة المركزية على أنه، من أجل جين معين ومنتجه البروتيني، توجد علاقة خطية ما بين التسلسل (المتوالية) المرمِّز في الدنا (DNA) وتسلسل الرنا المرسال (mRNA) وتسلسل البروتين (الشكل 38-7)، ويجب أن تنعكس التغيرات التي تطرأ على تسلسل الدنا (DNA) بشكل تبدل في تسلسل الرنا المرسال (mRNA) وفي تسلسل البروتين بحسب طريقة استعمال الروامز.

لقد جرى مؤخراً نشر استثناءات قليلة لهذه المسلمة، حيث يمكن أن تتبدل معلومات الترميز على مستوى الرنا المرسال (mRNA) بواسطة تصحيح الرنا (RNA editing). وفي مثل هذه الحالات، يختلف التسلسل المُرمِّز في الرنا المرسال (mRNA) عن ذلك الذي في الدنا (DNA) الأصل. ومثال ذلك هو جين صميم البروتين الشحمي B (apo B) والرنا المرسال (mRNA). ففي الكبد يُنتَسَخ هذا الجين إلى الرنا المرسال (mRNA) الذي يُترجَم إلى بروتين وزنه الجزيئي 100 ك. دالتون (الصميم B100). أما في الأمعاء فيوجه الجين نفسه تركيب المُنتسَخ الأولي؛ ولكن تَقلب نازعة أمين السيتيدين الرامزة CAA في الرنا (RNA) المرسال إلى UAA عند موضع نوعي مفرد. وتتحول هذه الرامزة من كونها مُرَمِّزة للجلوتامين إلى إشارة إنهاء؛ وتكون النتيجة هي بروتين بوزن 48 ك. دالتون (الصميم B48). ويكون للصميم B100 والصميم B48 وظائف مختلفة في العضوين. ويشتمل العدد المتنامي من الأمثلة الأخرى على تغير الجلوتامين إلى أرجينين في مستقبلات الجلوتامات، وعدة تغيرات في أشكال الرنا المرسال المتقدرية في المثقبيَّات (Trypanosomes) تتضمن بوجه عام إضافة أو حذف اليوريدين.

يعالج الرنا النقال ويحور بشكل واسع:

تعمل جزيئات الرنا النقال (tRNA)، كما هو موصوف في (الفصلين 37 و 40)، كجزيئات مُلْئِمة (لُؤَم) (Adapters) تساهم في ترجمة الرنا المرسال (mRNA) إلى بروتينات. وتحتوي جزيئات الرنا النقال (tRNA)على تعديلات كثيرة في الأسس الرئيسية A و U و G و C تتضمن المثيلة والاختزال ونزع الأمين وإعادة ترتيب

الروابط الجليكوزيدية. وتُنتَسخ جزيئات الرنا النقال (tRNA) في طليعيات وحقيقيات النوى على شكل طلائع كبيرة، تحتوي غالباً على متواليات لأكثر من رنا نقال (tRNA) واحد، وتتعرض لاحقاً لمعالجة بتفاعلات حالة نووية (Nucleolytic processing) بواسطة صف نوعي من إنزيمات الريبونوكلياز فيُختزَل حجمها. وبالإضافة إلى ذلك، تحتوي جينات بعض جزيئات الرنا النقال (tRNA) ـ في موضع قريب جداً من الجزء الموافق لعروة مقابلة الرامزة ـ على إنترون واحد بطول 10-40 نوكليوتيداً. وتُنتَسخ هذه الإنترونات في جينات الرنا النقال، لذلك فإن معالجةَ طلائع منتسخات الكثير من جزيئات الرنا النقّال (tRNA) يجب أن يتضمن نزع الإنترونات والتضفير الملائم لمنطقة مقابلة الرامزة، بهدف توليد جزيء مُلائم (Adapter) نشيط من أجل تخليق البروتينات. ومن الواضح أن الإنزيمات الحالة النووية المساهمة في معالجة طلائع الرنا النقال (tRNA) تقوم بالتعرُّف على البنية ثلاثية الأبعاد وليس المتواليات الخطية للرنا(RNA). ولهذا، فإن هذه الجملة الإنزيمية تقوم بمعالجة الجزيئات القادرة على التطوي بشكل نواتج مؤهلة وظيفياً فقط.

تتضمن التعديلات الأخرى لجزيئات الرنا النقال (tRNA) ألكلة (Alkylation) النوكليوتيدات وارتباط النهاية C . C . A بالنهاية ´3 من الجزيء بواسطة إنزيم ناقلة النوكليوتيديل. وتكون مجموعة الهيدروكسيل ´3 من ريبوز الأدينيليل هي موضع ارتباط الحمض الأميني النوعي الذي يدخل في تفاعل البَلمرة عند تخليق البروتين. وتجري مَثْيلة طلائع الرنا النقّال (tRNA) للثدييات في النواة على الأغلب، في حين أن عملية الشطر وربط النهاية C . C . A هما من الوظائف الخلوية الهيولية لأن النهايات تتقلب بسرعة أكبر مما تفعله جزيئات الرنا النقال (tRNA) نفسها. وتقوم إنزيمات ضمن الهيولى في خلايا الثدييات بمسؤولية ربط الأحماض الأمينية بالثمالات C . C . A.

يُمكن للرنا أن يعمل كمحفز:

إضافة للفعل التحفيزي الذي تقوم به جزيئات snRNAs في تشكيل الرنا المرسال (mRNA)، هناك عدة تفاعلات إنزيمية أخرى نسبت للرنا (RNA). وتُعَرَّف

الإنزيمات الريبية (Ribozymes) على أنها جزيئات من الرنا (RNA) تملك فعالية تحفيزية تتضمن عموماً تفاعلات تبادل أو نقل الإستر (Transesterification) يتعلق معظمها بأيض الرنا (التضفير والريبونوكلياز الداخلية). وقد لُوحظ مؤخراً بأن أحد مكونات الرنا (RNA) الريباسي يستطيع حلمهة إستر الأمينو أسيل، ومن ثم يستطيع أن يقوم بدور مركزي في وظيفة الرابط الببتيدي (الفصل 40). وتبين هذه الملاحظات المأخوذة من دراسات على عضيات من النباتات والخمائر والڤيروسات وخلايا حقيقيات النوى العليا أن الرنا (RNA) يمكنه أن يعمل كإنزيم. ولقد أحدث هذا انقلاباً في التفكير حول عمل الإنزيمات وأصل الحياة نفسها.

الخلاصة:

يُخلَق الرنا (RNA) من مِرصاف الدنا (DNA) بواسطة إنزيم بوليميراز الرنا. وهناك ثلاثة أنواع من بوليميراز الرنا: النمط I ينسخ الرنا (RNA) الريباسي، والنمط II ينسخ الرنا المرسال والنمط III ينسخ الرنا النقال. ترتبط إنزيمات البوليميراز عديدة الوُحيدات بمنطقة المِعزاز من الجين وتنسخ تسلسل الطاق المِرصاف من الدنا (DNA) (وحدة الانتساخ) إلى طاق متمِّم من الرنا(RNA) (المُنتَسَخ الأولي). وتكون المعازيز في طليعيات النواة بسيطة وتتألف بشكل عام من 40 زوجاً من الأسس من الدنا (DNA) يضم اثنين من العناصر: صندوق TATA الذي يوجد على بعد 10 أزواج من الأسس أعلى موضع ابتداء الانتساخ، والعنصر الثاني يوجد على بعد 35 زوجاً من الأسس بالاتجاه ´5. أما معازيز حقيقيات النوى فهي أكثر تعقيداً، وتتألف عادة من عدة عناصر. وتتضمن إحدى المجموعات من هذه العناصر أن يبدأ الانتساخ في الموضع الصحيح. وتقوم عناصر تلك المجموعة، بما فيها صندوق TATA، أيضاً بتوفير معدل أساسي للابتداء، وهي توجد عادة ضمن مجال 100-200 زوجاً من الأسس من موضع بداية الانتساخ. وهناك مجموعة أخرى من العناصر توجد في موضع أبعد بالاتجاه ´5 من موضع ابتداء الانتساخ، وتستطيع أن تُعزز أو تَكظم (تُسكت) الانتساخ؛ وتعمل كعناصر نوعية للأنسجة أو كعناصر استجابة للإشارات.

ويمكن تقسيم عملية الانتساخ إلى الابتداء والتطويل والإنهاء. وتتطلب كل خطوة وجود عدة إنزيمات أو عوامل أخرى إضافة إلى بوليميراز الرنا. ويتألف المُنتَسخ الأولي عادة في حقيقيات النواة من أجزاء مرمزة للأحماض الأمينية (الإكسونات) تفصل ما بينها متواليات اعتراضية (الإنترونات) تُنتزع عند معالجة المُنتَسخ الأولي لتشكيل الرنا المرسال (mRNA) الناضج. ويُخَلَّق الرنا الريباسي أيضاً على شكل جزيء طليعي (45S) يعالج ليعطي الأشكال الناضجة 28S و 18S و 5.8S.

*** Reference:**

Beelman CA, Parker R: Degradation of mRNA in eukaryotes. *Cell* 1995;81;179.

Berget SM: Exon recognition in vertebrate splicing. *J Biol Chem* 1995;270;2411.

Busby [S], Ebright RH: Promoter structure, promoter recognition and transcription activation in prokaryotes. *Cell* 1994;79;743.

Fedor MJ: Ribozymes . *Curr Biol 1998*;8;R441.

Javahery R et al :DNA sequence requirements for transcriptional initiator activity in mammalian cells *Mol Cell Biol* 1994;14;1116.

Keaveney M, Struhl K: Activator- mediated recruitment of the RNA polymerase machinery is the predominant mechanism for transcriptional activation in yeast. *Mol Cell* 1998;1;917.

Kim Y et al: Crystal structure of a yeast TBP/TATA -box complex. *Nature* 1993;365;512.

Manley JL: Messenger RNA polyadenylation: A universal modification. *Proc natl Acad Sci U S A* 1995;92;1800.

Nilsen TW: RNA-RNA interactions in the spliceosome: Unraveling the ties that bind. *Cell* 1994:78:1

Orphanids G et al: The general transcription factors of RNA polymerase II . *Genes Dev* 1996;10;2657.

Proudfoot NJ: Post-transcrptional regulation: Chasing your own poly (A) tail. *Curr Biol* 1994;4;359.

Reines D, Conaway , JW, Conaway RC: the RNA polymerase II general elongation factors. *Trends Biochem Sci* 1996;21;351.

Roeder RG: The role of general initiation factors is transcription by RNA polymerase II. *Trands Biochem Sci* 1996;21;327.

Tjian R. Molecular machines that control genes. *Sci Am* 1995;272;54

الفصل الأربعون

تخليق البروتين والراموز الجيني

Protein Synthesis and the Genetic Code

مقدمة:

تمثل الأحرف A وG وT وC النوكليوتيدات الموجودة في الدنا. تنتظم هذه الأحرف في كلمات راموز ثلاثي الأحرف تدعى الروامز (مفردها رامزة) (Codons). التي يُشكل مجموعها ما يسمى الراموز الجيني (الشفرة الوراثية: Genetic code). وتحدد المصفوفة الخطية (Linear array) للروامز (الجين Gene) تخليق مختلِف جزيئات الرنا (RNA) التي يساهم معظمها في مختلف مراحل تخليق البروتينات. ويمر هذا الأخير في ثلاث خطوات رئيسية هي: الابتداء والتطويل والإنهاء. وتماثل هذه العملية تنسخ الدنا وانتساخه في ملامحها العامة، وفي حقيقة أنها تتبع أيضاً القطبية 5´ إلى 3´.

الأهمية الطبية البيولوجية:

لقد كان من المستحيل فهم التخليق البروتيني، أو تفسير الطفرات، قبل كشف الراموز الجيني الذي يوفر لنا أيضاً أساساً لتفسير الطريقة التي يمكن أن تؤدي من خلالها العيوب البروتينية إلى أمراض وراثية، وأساساً لتشخيص هذه الاضطرابات وربما معالجتها. كما ترتبط الفيزيولوجية المرضية للكثير من الأمراض المعدية الفيروسية بقدرة الفيروسات على الإخلال بالتخليق البروتيني في خلايا الثّوي أو المضيف. كما تأتي فعالية الكثير من العوامل المضادة للجراثيم من قدرتها على الإخلال بعملية التخليق البروتيني في الخلية الغازية.

تتبع المعلومات الجينية خط سير يبدأ من الدنا ويمر بالرنا فالبروتين:

تُنتسخ المعلومات الجينية ضمن المتوالية النوكليوتيدية للدنا في النوى إلى متوالية نوكليوتيدية نوعية لجزيء الرنا. وتكون متوالية النوكليوتيدات في نسخة الرنا متممة للمتوالية النوكليوتيدية للطاق المِرصاف الخاص بجينه بما يتفق مع قواعد تزاوج الأسس. وتشترك عدة صفوف مختلفة من الرنا في توجيه التخليق البروتيني.

يكون هناك، في طليعيات النوى، توافق خطي بين الجين والرنا المرسال (mRNA) المُنتَسَخ منه والناتج عديد الببتيد. أما في خلايا حقيقيات النوى الأرقى فالوضع أكثر تعقيداً، حيث يكون المُنتَسَخ الأولي (الرنا النووي المتغاير (hnRNA)) أطول بكثير من الرنا المرسال الناضج. ويحتوي hnRNA على مناطق ترميز (إكسونات) تُشكِّل الرنا المرسال الناضج ومتواليات اعتراضية طويلة (إنترونات) تفصل بين الإكسونات. ويعالج hnRNA ضمن النواة، وتُنتزع الإنترونات التي غالباً ما تشكل مقادير من hnRNA أكثر بكثير من الإكسونات. وتُضفر الإكسونات لتشكيل الرنا المرسال الناضج الذي يُنقل إلى الهيولى حيث يترجم هناك إلى جزيء بروتيني.

يجب أن تمتلك الخلية الآليات الضرورية لترجمة المعلومات ـ بدقة وكفاءة ـ من المتوالية النوكليوتيدية للرنا المرسال إلى متوالية من الأحماض الأمينية للبروتين النوعي الموافق. وقد انتظر إيضاح فهمنا لهذه العملية التي تُدعى الترجمة (Translation) حتى تم كشف الراموز الجيني. وقد أمكن التحقق باكراً من أن جزيئات الرنا المرسال (mRNA) بحد ذاتها لا تتصف بألفة للأحماض الأمينية، ولذلك تتطلب ترجمة المعلومات في المتوالية النوكليوتيدية للرنا المرسال (mRNA) إلى متوالية الأحماض الأمينية للبروتين جزيء لؤمة (Adapter) يعمل كوسيط ينبغي عليه التعرف على متوالية نوكليوتيدية نوعية من جهة وعلى الحمض الأميني النوعي من الجهة الأخرى. وبوجود مثل هذا الجزيء، تستطيع الخلية أن توجه حمضاً أمينياً معيناً إلى الموضع التسلسلي المناسب من البروتين حسبما تمليه المتوالية النوكليوتيدية للرنا المرسال (mRNA) النوعي. وفي الحقيقة، لا تغدو المجموعات الوظيفية للأحماض الأمينية بحد ذاتها على تماس فعلي مع مِرصاف الرنا المرسال (mRNA).

تتألف المتوالية النوكليوتيدية لجزيء الرنا المرسال (mRNA) من مجموعة من الروامز التي تخصص أو تعيِّن متوالية الأحماض الأمينية في البروتين المرمز:

تقوم جزيئات الرنا النقال (tRNA) بدور الجزيئات المُلْئمة (Adaptor) التي تترجم الروامز إلى متوالية من الأحماض الأمينية للبروتين. أما الريباسة (Ribosome) فهي الآلة الخلوية التي تتآثر عليها هذه الكيانات الوظيفية المختلفة لتقوم بعملية تجميع جزيئات البروتين. ويمكن أن يتجمع الكثير من هذه الوحدات تحت الخلوية (الريباسات) لترجمة جزيء واحد من الرنا المرسال (mRNA) في الوقت نفسه، وتشكل بذلك ما يسمى عديد الريباسات (Polyribosome) .وتعد الشبكة الهيولية الباطنة الخشنة حيزاً مكوناً من عديدات الريباسات المرتبطة بالغشاء، والتي تكون موضعاً لتخليق البروتينات الغشائية والبروتينات المعدة للتصدير (خارج الخلية). كما توجد عديدات ريباسات حرة في الهيولى، حيث تعمل على تخليق البروتينات التي ستبقى ضمن الخلية.

يتطلب تخليق المجموعة الكاملة لبروتينات الخلية وجود 20 حمضاً أمينياً مختلفاً مما يعني أنه لا بد من وجود 20 رامزة متميزة على الأقل تشكل الراموز الجيني. وبما أنه توجد 4 نوكليوتيدات مختلفة فقط في الرنا المرسال (mRNA)، لذا يجب أن تتألف كل رامزة من أكثر من نوكليوتيد بوريني أو بَيريميديني منفرد. ولا تعطي الروامز المؤلفة من نوكليوتيدين سوى 16 (4^2) رامزة نوعية، في حين يمكن أن تعطي الروامز ثلاثية النوكليوتيدات 64 (4^3) رامزة نوعية.

لقد بات معروفاً الآن أن كل رامزة تتألف من متوالية لثلاثة نوكليوتيدات، أي أن الراموز ثلاثي الأحرف (Triplet code). وقد اعتمد كشف الرامز الجيني كثيراً على التركيب الكيميائي للمكاثير النوكليوتيدية، لا سيما الثلاثيات المكررة.

يكون الراموز الجيني متنكساً وغير ملتبس وغير متراكب ومن دون تقطع وعاماً:

هناك ثلاث روامز لا ترمِّز أحماضاً أمينية نوعية تدعى الروامز الهرائية

[عديمة التوجه] (Nonsense codons) يستخدم منها اثنتان على الأقل في الخلية كإشارات إنهاء (Termination signals) تعين المكان الذي ستتوقف عنده بلمرة الأحماض الأمينية إلى الجزيء البروتيني. أما بقية الروامز (61 رامزة) فترمِّز 20 حمضاً أمينياً (الجدول 40-1). هذا يعني أنه يجب أن يكون هناك «تنكسية» (Degeneracy) في الراموز الجيني، أي يجب أن يكون لدينا عدة روامز تشفر الحمض الأميني نفسه. ويجري ترميز بعض الأحماض الأمينية بعدة روامز (مثلاً تعين 6 روامز مختلفة السيرين). ويكون لأحماض أمينية أخرى، كالميثيونين والتريبتوفان، رامزة واحدة. وعلى العموم، يكون النوكليوتيد الثالث في الرامزة أقل أهمية من الاثنين الآخرين في تعيين الحمض الأميني النوعي الذي سيدخل في التركيب، وهذا يكون مسؤولاً عن معظم تنكسية الراموز.

ومن الناحية الأخرى، لا يمكن لأي من الروامز أن تدل إلا على حمض أميني واحد فقط. هذا يعني ـ وإذا استثنينا بعض الحالات النادرة ـ أن الراموز الجيني غير قابل للالتباس (Unambiguous)؛ والتمييز بين مفهومي عدم الالتباس والتنكسية أمر في غاية الأهمية.

يمكن تفسير الراموز غير الملتبس والمنتكس على المستوى الجزيئي. فالتمييز بين روامز معينة في الرنا المرسال من قبل جزيئات الرنا النقال (tRNA) المُلْئِمة يعتمد على مناطقها المقابلة للرامزة (Anticodon regions) وعلى القواعد النوعية لازدواج الأسس. ويحتوي كل جزيء من الرنا النقال على متوالية نوعية متمِّمة للرامزة تُدعى مقابلة الرامزة (Anticodon) ومقابل كل رامزة معينة في الرنا المرسال يوجد أنواع مخصصة من جزيئات الرنا النقال تمتلك مقابلة الرامزة المناسبة. وبما أن كل جزيء من الرنا النقال يمكن أن يحمل بحمض أميني معين واحد فقط، لذلك تحدد كل رامزة حمضاً أمينياً واحداً فقط. ولكن، يمكن أن تستخدم بعض جزيئات الرنا النقال مقابلة الرامزة للتعرف على أكثر من رامزة واحدة. وبشكل عام ـ وباستثناء بعض الحالات القليلة لا يمكن لرامزة معينة أن تستدعي أكثر من حمض أميني معين واحد، في حين يمكن للحمض الأميني المعين أن يُستدعى من قبل أكثر من رامزة لإدخاله في البروتين.

النوكليوتيد الأول	النوكليوتيد الثاني				النوكليوتيد الثالث
	U	**C**	**A**	**G**	
U	فينيل ألانين	سيرين	تيروزين	سيستيين	U
	فينيل ألانين	سيرين	تيروزين	سيستيين	C
	لوسين	سيرين	إنهاء	إنهاء [2]	A
	لوسين	سيرين	إنهاء	تربيتوفان	G
C	لوسين	برولين	هيستيدين	أرجينين	U
	لوسين	برولين	هيستيدين	أرجينين	C
	لوسين	برولين	جليسين	أرجينين	A
	لوسين	برولين	جليسين	أرجينين	G
A	إيزولوسين	ثريونين	أسباراجين	سيرين	U
	إيزولوسين	ثريونين	أسباراجين	سيرين	C
	إيزولويسين[2]	ثريونين	لي سرين	أرجينين[2]	A
	ميثيونين	ثريونين	ليسين	أرجينين[2]	G
G	ڤالين	ألانين	أسبارتات	جليسين	U
	ڤالين	ألانين	أسبارتات	جليسين	C
	ڤالين	ألانين	جلوتامات	جليسين	A
	ڤالين	ألانين	جلوتامات	جليسين	G

الجدول 1-40 : الراموز الجيني (تعيين الرامزة في الرنا المرسال (mRNA) [1].

1- تشير مصطلحات الأول والثاني والثالث إلى النوكليوتيدات الفردية للراموز الثلاثي (من اليسار (´5) إلى اليمين (´3)) .
U = نوكليوتيد اليوريدين، C= نوكليوتيد السيتوزين، A = نوكليوتيد الأدينين، G = نوكليوتيد الجوانين؛ Met = رامزة ابتدارية للسلسلة؛ إنهاء = رامزة إنهائية للسلسلة. AUG رامزة الميثيونين وتخدم كرامزة ابتدارية في خلايا الثدييات.
2- في متقدرات الثدييات، ترمِّز AUA الميثيونين و UGA التريبتوفان، وتعمل AGA و AGG كروامز إنهائية للسلسلة.

وكما سنشرح لاحقاً، لا تشمل قراءة الراموز الجيني خلال عملية التخليق البروتيني أي تراكب للروامز. وهكذا، لا يكون الراموز الجيني متراكباً. وعلاوة على ذلك، عندما تبدأ القراءةُ عند رامزة معينة، لا يكون هناك تقطع بين الروامز، وتُقرأ الرسالة بتتابع مستمر للثلاثيات النوكليوتيدية إلى حين الوصول إلى رامزة هرائية.

كان يعتقد حتى فترة حديثة أن الراموز الجيني عام، ولكن تبين الآن أن مجموعة جزيئات الرنا النقّال في المتقدرات (التي تحتوي على مجموعتها الذاتية المنفصلة والمتميزة من آليات الترجمة) الموجودة في حقيقيات النوى الدنيا والعليا (بما في ذلك الإنسان) تقرأ أربع روامز بشكل مختلف عما تقرأه جزيئات الرنا النقال في هيولى الخلايا نفسها. وكما يلاحظ في (الجدول 40-1)، تقرأ الرامزة AUA على أنها ميثيونين و UGA على أنها تريبتوفان في متقدرات الثدييات. كما تُقرأ الرامزتان AGA و UGG في المتقدرات على أنهما رامزتا إيقاف أو إنهاء للسلسلة، وليس على أنهما أرجينين. ونتيجة لذلك، لا تتطلب المتقدرات سوى 22 جزيئاً من الرنا النقال لقراءة راموزها الجيني، في حين تمتلك جملة الترجمة الهيولية مجموعة كاملة من أنواع الرنا النقال البالغة 32. ومع ملاحظة هذه الاستثناءات، يقال إن الراموز الجيني عام (Universal). ويختلف تواتر استعمال كل رامزة حمض أميني على نحو واسع بين الأنواع، وحتى ضمن مختلف النسج في النوع الواحد. وقد أصبحت جداول استخدام الروامز أكثر دقة من تزايد الجينات التي جرت سلسلُتها. ويكتسب هذا أهمية كبيرة لأن الباحثين غالباً ما يحتاجون إلى استنتاج بنية الرنا المرسال من التتابع الأولي لجزء من البروتين، بهدف تخليق مسبار (Probe) قليل النوكليوتيد وإبداء مشروع لتنسيل الدنا المأشوب. ويدرج (الجدول 40-2) الخصائص الرئيسية للراموز الجيني.

الجدول 40-2: ملامح الراموز الجيني.

متنكس (Degenerate)
غير ملتبس (Unambiguous)
غير متراكب (Nonoverlapping)
غير متقطع (Non punctuated)
عام (Universal)

يوجد على الأقل نوع واحد من الرنا النقال لكل حمض من الأحماض الأمينية العشرين:

تتصف جزيئات الرنا النقال بوظائف وبنى ثلاثية الأبعاد متشابهة إلى حد بعيد. وتتطلب وظيفة جزيئات الرنا النقال المُلْئِمة تحميل كل رنا نقال نوعي بحمضه الأميني الخاص. وبما أنه لا توجد ألفة بين الأحماض النووية والمجموعات الوظيفية للأحماض الأمينية، لذا يجب أن يجري هذا اللقاء بتواسط جزيء بروتيني مؤهَّل للتعرف على كل من جزيء الرنا النقال النوعي والحمض الأميني النوعي. ولابد من وجود ما لا يقل عن عشرين إنزيماً نوعياً لتقوم بوظيفة التعرف النوعية هذه بين الحمضين النووي والأميني، ومن ثم ارتباطهما النوعي. وتجري عملية التعرف والارتباط (التحميل) هذه في خطوتين ويتواسطها إنزيم واحد نوعي لكل من الأحماض الأمينية العشرين. وتُدعى هذه الإنزيمات إنزيمات سنتاز (أو مُخَلِّقَة) أمينوأسيل الرنا النقال. وهي تشكل متوسطاً منشطاً مكوناً من الإنزيم والأمينوأسيل والأمب (AMP) (الشكل 40-1).

وبعد ذلك، يتعرف هذا المعقدُ النوعي (إنزيم ـ أمب ـ أمينوأسيل) على الرنا النقَّال النوعي وينقل إليه جزيء الأمينوأسيل ليرتبط بالهيدروكسيل 3´ لنوكليوتيد الأدينوزين عند النهاية 3´ من الرنا النقال (tRNA). ويقل معدل الخطأ في تفاعلات التحميل هذه عن 10^{-4}، ولذلك فهي دقيقة جداً، ويبقى الحمض الأميني متصلاً بالرنا النقال النوعي الخاص به برابطة إسترية إلى أن يتبلمَر في موضع معين من عديد الببتيد الطليعة للجزيء البروتيني.

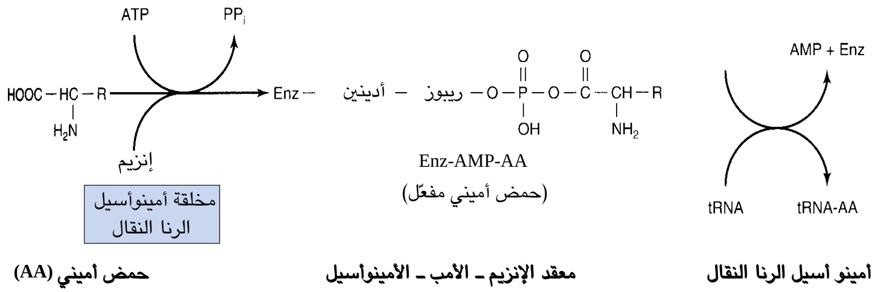
وقد أصبحت مناطق جزيء الرنا النقال المشار إليها في الفصل 37 (والموضحة في الشكل 37-11) مهمة الآن؛ فذراع الثيميدين ـ اليوريدين الكاذب ـ السيتيدين (TΨC) يساهم في ارتباط أمينو أسيل الرنا النقَّال بالسطح الريباسي عند موضع تخليق البروتين. وتعد الذراع D أحد المقرات المهمة للتعرف الصحيح على أفراد معينة من الرنا النقال من قبل مُخَلِّقَة أمينو أسيل الرنا النقال المناسبة؛ أما الذراع المتقبلة المتوضعة عند النهاية 3´ فهي مقر ارتباط الحمض الأميني النوعي.

وتتعرف منطقة مقابلة الرامزة على الرامزة ثلاثية الأحرف في الرنا المرسال

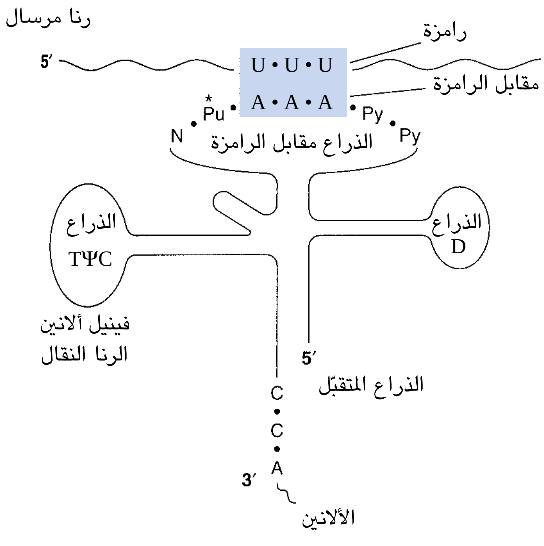
(الشكل 40-2)، وتتألف من 7 نوكليوتيدات هي (بالاتجاه ´3 إلى ´5): أساس غير محدد – بورين مُعَدل – X - Y - Z– بَيريميدين ـ بَيريميدين. لاحظ أن اتجاه قراءة مقابلة الرامزة هو من ´3 إلى ´5 في حين تكون قراءة الراموز الجيني في الجدول 40-1 هي من ´5 إلى ´3، لأن الرامزة والعروة مقابلة الرامزة من جزيئات الرنا المرسال والرنا النقَّال على الترتيب تكونان متعاكستي التوازي في تتامهما.

يستقر تنكس الراموز الجيني في النوكليوتيد الأخير من الثلاثية الراموزية بشكل رئيسي، مما يوحي بأن ازدواج الأسس بين هذا النوكليوتيد الأخير والنوكليوتيد الموافق لمقابلة الرامزة ليس مقيداً بقاعدة واطسون كريك بالضبط. وهذا ما يدعى التطوح أو التمايل (Wobble)، أي أن ازدواج الرامزة ومقابلة الرامزة يتمايل عند موضع هذا الازدواج النوكليوتيدي ـ النوكليوتيد النوعي؛ فعلى سبيل المثال، يمكن أن ترتبط رامزتا الأرجينين AGA و AGG بمقابلة الرامزة نفسها التي تمتلك اليوراسيل عند نهايتها´5 (UCU) وبالمثل، يمكن أن تزدوج الروامز الثلاث للجليسين (GGU و GGC و (GGA) مع مقابلةِ رامزة واحدة هي CCI (بحيث يمثل I نوكليوتيد الإينوزين، أحد الأسس المميَّزة التي تظهر في جزيئات الرنا (RNA)النقَّال فقط).

لا يعتمد تَعرف جزيء الرنا النقال بالرامزة على الحمض الأميني المرتبط بنهايته الهيدروكسيلية ´3. وقد جرى إيضاح ذلك على نحو بين بتحميل رنا نقال نوعي للسيستيين (tRNAcys) بسيستيين موسوم إشعاعياً. ثم تم تحوير ثمالة السيستيينيل لتوليد جزيء رنا نقال نوعي للسيستيين لكنه مشحون بالألانين، وقد تم ذلك بوسائل كيميائية لا تُغير جزء مقابلة الرامزة من جزيء الرنا النقال النوعي للسيستيين. وعندما استخدم ألانين الرنا (RNA) النقال المعدل (alanyl-tRNAcys) هذا في ترجمة رناً مرسال (mRNA) مُرَمِّز للهيموجلوبين، وُجد الألانين المشع داخل جزيء الهيموجلوبين في المواضع التي يُفتَرَض أن تكون حاوية على السيستيين. وقد أظهرت هذه التجربة أن المشتق الأمينوأسيلي لجزيء أمينوأسيل الرنا النقال لا يتدخل في التعرف على الرامزة. وكما سبق أن لاحظنا، ليس هناك تماس فعلي ومباشر بين جزيء الأمينوأسيل والرنا المرسال المِرصاف الذي يحتوي على الروامز.



الشكل 40-1 : تشكيل أمينوأسيل الرنا النقال. يؤدي تفاعل ثنائي الخطوة يشمل إنزيم سنتاز أمينوأسيل الرنا النقال إلى تشكيل أمينوأسيل الرنا النقَّال. ويشمل التفاعل الأول تشكيل معقد مكون من الأمب (AMP) والحمض الأميني والإنزيم؛ ثم ينقل الحمض الأميني المنشط إلى جزيء الرنا النقال الموافق، ويتحرر الأمب (AMP) والإنزيم، ويمكن استخدام الأخير ثانية. ولا يتجاوز معدل الخطأ في تفاعلات التحميل هذه 10-4، وبذلك فهي دقيقة للغاية.



الشكل 40-2 : تعرف مقابلة الرامزة على الرامزة. إحدى روامز الفينيل ألانين هي UUU؛ ويكون للرنا النقال المحمل بالفينيل ألانين (Phe)المتوالية المتممة AAA؛ وبذلك فهي تشكل معقداً من ازدواج أسسها مع أسس الرامزة. وتتألف منطقة مقابلة الرامزة بشكل نموذجي من متوالية من 7 نوكليوتيدات: أساس ما ((N) بورين مُعدَّل *Pu)- Z - Y - X - بَيريميدينَيْن (Py) في الاتجاه من 3´ إلى 5´ .

تظهر الطفرات عند تغير تسلسل النوكليوتيدات:

رغم أن التغير الأولي قد لا يحدث في الطاق المِرصاف لجين ما من جزيء الدنا (DNA) مضاعف الطاق، إلا أنه يمكن عزل جزيئات الدنا (DNA) البنات الحاوية على طفرات في الطاق المِرصاف وظهورها في جمهرة الكائنات الحية.

تحدث بعض الطفرات نتيجة استبدال الأسس:

يمكن أن تكون تغيرات الأسس المفردة (الطفرات النقطية (Point mutations)) انتقالات (Transitions) أو تِبْدَالات (Transversions). فيتغير في الحالة الأولى بَيريميدين معين إلى بَيريميدين آخر، أو يتغير بورين معين إلى بورين آخر؛ أما التبْدَالات فهي تغيُّرات أساس بوريني إلى أحد البَيريميدينَين أو تغيُّر أساس بَيريميديني إلى أحد الأساسين من البورين (الشكل 40-3).

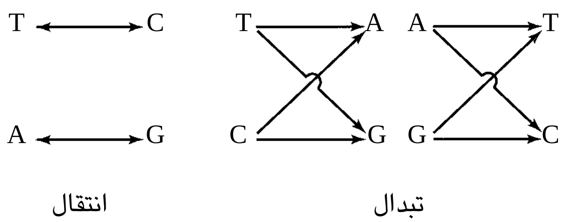
إذا انتسخت متوالية النوكليوتيدات لجِين حاوٍ على الطفرة إلى جزيء من الرنا، سيبدي هذا الأخير تغيراً في الأسس التتميمية عند الموضع الموافق للتغير الأصلي. ويمكن أن تحدث تغيرات الأسس المفردة في جزيئات الرنا المرسال واحداً من تأثيرات عديدة عندما تترجم إلى بروتين:

(1) قد لا يكون هناك تأثير قابل للكشف بسبب تنكسية الراموز. ويكون ذلك أكثر احتمالاً عندما يكون الأساس المتغير في جزيء الرنا المرسال عند النوكليوتيد الثالث من الرامزة. وبسبب التطوح أو التمايل، تكون ترجمة الرامزة أقل حساسية للتغير عند الموضع الثالث هذا.

(2) يحدث تأثير مغلط (Missense) عندما يدخل حمض أميني مختلف في الموضع الموافق من جزيء البروتين. وقد يكون الحمض الأميني الخطأ ـ بحسب موقعه ـ مقبولاً، أو مقبولاً جزيئاً، أو غير مقبول بالنسبة لوظيفة جزيء البروتين هذا. وبتفحص دقيق للراموز الجيني، يمكن استنتاج أن معظم التغيرات المفردة في الأسس ستؤدي إلى استبدال حمض أميني بآخر له مجموعات وظيفية مشابهة. ويعد ذلك آلية فعالة في تجنب التغيرات الضارة في الخصائص الفيزيائية لجزيء

البروتين. وعند حدوث تأثير مغلط مقبول، قد لا يمكن تمييز جزيء البروتين الناتج من الجزيء السوي. أما التأثير المُغَلِّط المقبول جزيئاً فينجم عنه جزيء بروتيني يحتفظ بوظيفته جزئياً لكنها تبقى غير سوية. وعند حدوث تأثير مغلط غير مقبول، فلن يكون جزيء البروتين الناتج مؤهلاً للقيام بوظيفته الاعتيادية.

(3) يمكن أن تظهر رامزة هرائية تؤدي إلى حدوث إنهاء مبتسر لتخليق السلسلة الببتيدية وإنتاج شدفة فقط من الجزيء البروتيني المقصود. ويكون الاحتمال كبيراً بأن لا يقوم جزيء البروتين أو الشدفة الببتيدية بوظفتهما المعتادة.

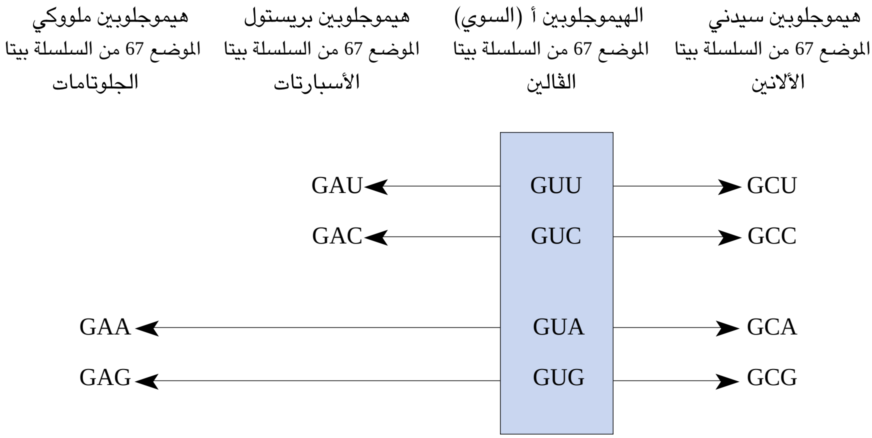


الشكل 3-40 : ترسيم لطفرات الانتقال وطفرات التبدال.

يبين الهيموجلوبين تأثيرات التغيرات المفردة في الأسس في الجينات البنيوية:

بعض الطفرات ليس لها تأثير واضح، ولا يمكن إظهار غياب التأثير الناجم عن تغير مفرد في الأسس إلا بسَلسَلَة النوكليوتيدات في جزيئات الرنا المرسال أو الجينات البنيوية للهيموجلوبين في عدد كبير من الأشخاص الذين لديهم جزيئات هيموجلوبين سوية. ولكن، يمكن الاستنتاج بأن رامزة الڤالين عند الموضع 67 من السلسلة بيتا للهيموجلوبين ليست متماثلة في كافة الأشخاص الذين يحملون السلسلة بيتا السوية في الهيموجلوبين. ونجد في الموضع السابق (67) حمض الجلوتاميك في هيموجلوبين ملْوُوكي (Milwaukee) وحمض الأسبارتيك في

هيموجلوبين بريستول (Bristol). وحتى يكون مسؤولاً عن تغير الحمض الأميني بتغير ثمالة نوكليوتيدية مفردة في رامزة الحمض الأميني 76، يجب أن يبدو أن الرنا المرسال المُرمِّز لهيموجلوبين بريستول يشمل الرامزة GUU أو GUC قبل التغير الأخير في GAU أو GAC، فكلا الرامزتين هما لحمض الأسبارتيك (الشكل 40-4). ولكن، يبدي الرنا المرسال المرمِّز لهيموجلوبين مِلْوُوكي عند الموضع 67 الرامزة GUA أو GUG حتى يعطي تغيراً نوكليوتيدياً مفرداً بالنسبة إلى ظهور رامزة حمض الجلوتاميك GAA أوGAG. ويمكن أن ينشأ هيموجلوبين سيدني (Sydney)، الذي يحتوي على الألانين عند الموضع 67، بتغير نوكليوتيدي مفرد عند أي من الروامز الأربع للڤالين (GUU أو GUA أو GUA أوGUG) (إلى روامز الألانين GCU أو GCC أوGCA أوGCG على الترتيب).



الشكل 40-4 : يمكن ترميز الڤالين السوي في الموضع 67 من السلسلة بيتا للهيموجلوبين A السوي بإحدى أربع روامز مبيَّنة داخل المستطيل. الحمض الأميني في الموضع 67 من السلسلة بيتا لهيموجلوبين مِلْوُوكي الشاذ هو الجلوتامات، المرمِّز بالرامزة G.A.A أو G.A.G، وينجم أي منهما عن تبدال أحادي الخطوة في رامزتي الڤالين G.U.A أو G.U.G وبالمثل، يمكن أن ينجم الألانين الموجود في الموضع 67 من السلسلة بيتا لهيموجلوبين سيدني عن تبدال مفرد في أي من روامز الڤالين الأربع، لكن ثمالة الأسبارتات في الموضع 67 من هيموجلوبين بريستول تنجم عن تبدال مفرد في رامزتي الڤالين G.U.U أوG.U.C فقط.

يؤدي استبدال الأحماض الأمينية إلى طفرات مغلطة:

1 – الطفرات المغلطة المقبولة: يمكن كشف مثال عن طفرة مغلطة مقبولة (الشكل 40-5، في الأعلى) في الجين البنيوي للسلسلة بيتا من الهيموجلوبين بوجود تغير بالرحلان الكهربائي لهيموجلوبين الكريات الحمر لشخص سليم ظاهرياً. وقد وجد هيموجلوبين هيكاري (Hikari) في عائلتين على الأقل من اليابانيين؛ ويلاحظ فيه استبدال الليسين بالأسباراجين في الموضع 61 من السلسلة بيتا. وقد يكون التّبْدال تغير AAA أو AAG إلى AAU أو AAC. ولا يؤدي استبدال الليسين بالأسباراجين إلى تغير واضح في الوظيفة السوية للسلسلة بيتا في هؤلاء الأشخاص.

2– الطفرات المُغَلِّطة المقبولة جزيئاً: إن أفضل مثال عن طفرة مُغَلِّطة مقبولة جزيئاً (الشكل 40-5، في الوسط) هو الهيموجلوبين المنجلي (الهيموجلوبين S) الذي يُستَبدَل فيه الحمض الأميني السوي في الموضع 6 من السلسلة بيتا (وهو حمض الجلوتاميك) بالقالين. ويكون التغير النوكليوتيدي المفرد الموافق ضمن الرامز هو تغير GAA أو GAG لحمض الجلوتاميك إلى GUA أو GUG للقالين. ومن الواضح أن هذه الطفرةَ المُغَلِّطة تقنِّع الوظيفة السوية أو تعيقها وتؤدي إلى حدوث فقر الدم المنجلي عندما يوجد الجين الطّافر في الحالة متماثلة الزيجوت. ويمكن أن يعد التغير من الجلوتامات إلى القالين مقبولاً جزيئاً، لأن الهيموجلوبين المنجلي يربط ويحرِّر الأكسجين، ولو بشكل غير سوي.

3 – الطفرات المغلطة غير المقبولة: وتؤدي إلى إنتاج جزيء الهيموجلوبين الفاقد لوظيفته. وكمثال عليها نذكر طفرات الهيموجلوبين M (الشكل 40-5، في الأسفل) التي تولد جزيئات تسمح لأيونات الحديدوز (Ferrous "Fe^{2+}") في جزيء الهيم بالتأكسد إلى أيونات الحديديك (Ferric "Fe^{3+}") ليتشكل الميتهيموجلوبين (Methemoglobin) الذي لا يمكنه نقل الأكسجين (انظر الفصل 7).

الروامز	الحمض الأميني	جزيء البروتين	
AAG أو AAA → AAC أو AAU	الليزين 61 → الأسباراجين	السلسلة بيتا من الهيموجلوبين A → السلسلة بيتا من هيموجلوبين هيكاري	مغلطة مقبولة
GAG أو GAA → GUG أو CAU	الجلوتامات 6 → الفالين	السلسلة بيتا من الهيموجلوبين A → السلسلة بيتا من الهيموجلوبين المنجلي	مغلطة مقبولة جزئياً
CAC أو CAU → UAC أو UAU	الهيستيدين 58 → التيروزين	السلسلة ألفا من الهيموجلوبين A → السلسلة ألفا من الهيموجلوبين M (هيموجلوبين بوسطن)	مغلطة غير مقبولة

الشكل 40-5 : أمثلة عن ثلاثة أنماط من الطفرات المغلطة المؤدية إلى شذوذ سلاسل الهيموجلوبين. أشير إلى تغيرات الأحماض الأمينية والتغيرات المحتملة في الروامز المقابلة؛ وتؤدي طفرة السلسلة بيتا في هيموجلوبين هيكاري إلى خصائص فيزيولوجية سوية ظاهرية، لكن يحدث تغير بالرحلان الكهربائي. وأما طفرة السلسلة بيتا في الهيموجلوبين المنجلي فتؤدي إلى وظيفة جزيئية، حيث يقوم الهيموجلوبين المنجلي بربط الأكسجين لكنه يترسب عند نقص الأكسجة. ويسمح هيموجلوبين بوسطون (M)، طفرة في السلسلة ألفا، بأكسدة حديد الهيم الثنائي إلى الحديد الثلاثي، ومن ثم لا يربط الأكسجين مطلقاً.

تنجم طفرات انزياح الإطار (Frame shift) عن خَبْن (Deletion) نوكليوتيدات من الدنا (DNA) أو غرزها (Insertion) فيه فتتولد أشكال متغيرة من الرنا المرسال:

يؤدي خَبْن نوكليوتيد مفرد من طاق الترميز في الجين إلى تغير إطار القراءة (Reading frame) في الرنا المرسال. ولأنه لا يوجد تقطع في قراءة الروامز، لن تعرف آليات ترجمة الرنا المرسال أن هناك أساس غائب. ولذلك سيحدث تغير مهم

في تسلسل الأحماض الأمينية المُبَلمَرة، كما هو مبين في المثال الأول من (الشكل 40-6). ويؤدي تغير إطار القراءة إلى ترجمة محرفة (Garbled) للرنا المرسال بعد موقع حدوث الخَبْن. وعلاوةً على ذلك، يمكن أن يؤدي الخَبْن أيضاً إلى ظهور رامزة هرائية خلال القراءة، ومن ثم إنتاج عديد ببتيد محرف ومُبتَسَر في الوقت نفسه (المثال الثالث في الشكل 40-6).

عندما تُخْبَن (تُحذف) ثلاثة نوكليوتيدات أو مضاعفاتها من منطقة الترميز، تؤدي ترجمة الرنا المرسال الموافق إلى إنتاج بروتين يغيب منه العدد الموافق من الأحماض الأمينية (المثال الثاني في الشكل 40-6). وبما أن إطار القراءة ثلاثي، لذلك لا تضطرب قراءة الروامز بعد موقع الخَبْن. أما عندما يحدث خَبْن نوكليوتيد واحد أو اثنين قبل رامزة الإنهاء السوية (الرامزة الهرائيّة) (Nonsensecodon) مباشرة أو ضمنها، تضطرب قراءة إشارة الإنهاء السوية مما يؤدي إلى القراءة عبر إشارة الإنهاء وبعدها حتى مصادفة رامزة هرائيّة أخرى (المثال الأول في الشكل 40-6). وقد ذكرنا أمثلة ممتازة عن هذه الظاهرة عند الحديث عن اعتلالات الهيموجلوبين.

يؤدي غرز نوكليوتيد واحد أو اثنين أو أكثر من غير مضاعفات الثلاثة في الجين إلى رنا مرسال يضطرب فيه إطار القراءة عند الترجمة، وتظهر التأثيراتُ نفسها التي تحدث في الخَبْن عند ترجمة الرنا المرسال. فقد يؤدي ذلك إلى متواليات منحرفة للأحماض الأمينية بعد موقع الغرز، أو توليد رامزة هرائية عند الغرز أو بعده، أو ربما إلى القراءة عبر رامزة الإنهاء السوية وبعدها.

يمكن أن يعيد الغرز تصحيح إطار القراءة بعد اضطرابه نتيجة حدوث الخَبْن في الجين (والعكس بالعكس) (المثال 4 في الشكل 40-6). وقد يحتوي الرنا المرسال الموافق عند ترجمته على تسلسل منحرف (متوالية منحرفة) من الأحماض الأمينية بين الغرز والخَبْن. ولذلك يجري تصحيح تتابع الأحماض الأمينية بعد إعادة توطيد القراءة. ويمكن أن نتخيل أن التواليف المختلفة للخَبْن أو الغرز أو لكليهما قد تؤدي إلى تشكيل بروتين فيه جزء شاذ، لكن هذا الجزء محاط بمتواليات سوية للأحماض الأمينية. وقد أوضحت هذه الظاهرة بشكل مقنع في العاثية الجرثومية T4، وأسهم هذا الكشف بشكل هام في البينات القائلة بأن إطار القراءة ثلاثي.

تنقص الطفرات الكاظمة (Suppressor) تأثيرات الطفرات المغلطة والهرائية وطفرات إزاحة الإطار:

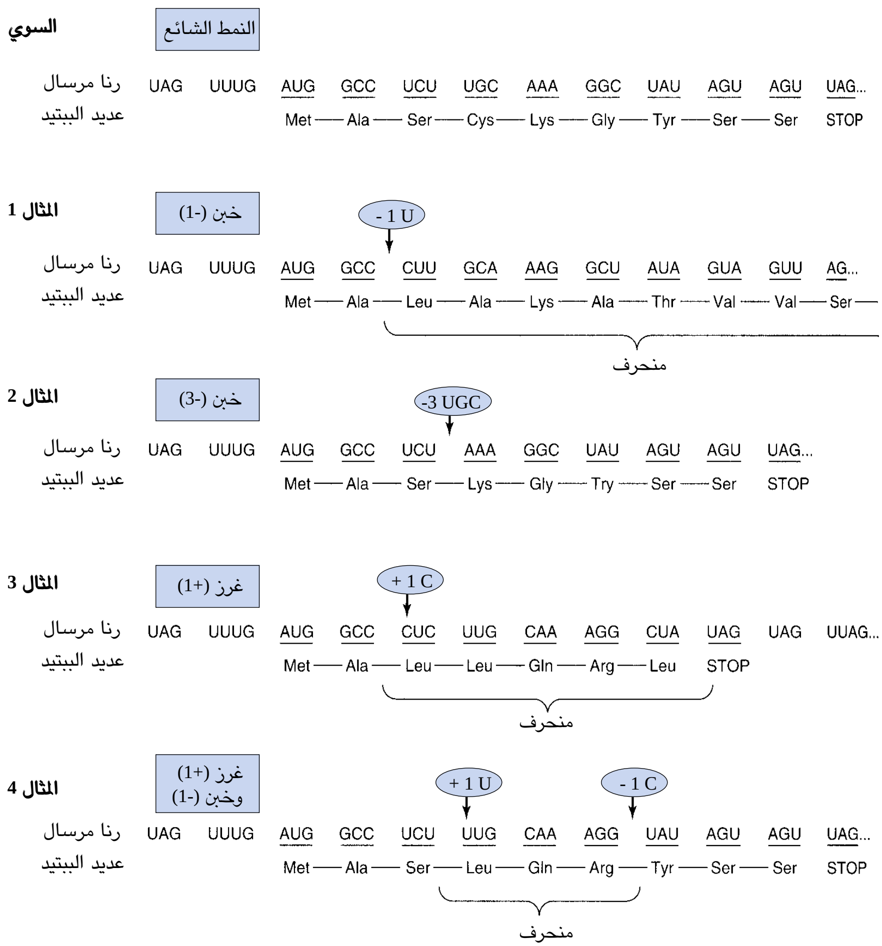
تعتمد الدراسة السابقة لنواتج الطفرات الجينية من البروتينات المتغيرة على وجود جزيئات رنا نقال سوية الوظيفة. ولكن كشف في الكائنات طليعيات النوى وحقيقيات النوى الدنيا أن هناك بعض جزيئات الرنا النقال التي تعمل بشكل شاذ، وهي نفسها ناجمة عن الطفرات.

تستطيع بعض جزيئات الرنا النقال هذه كَظْم تأثيرات الطفرات في الجينات البنيوية المختلفة. كما تستطيع جزيئات الرنا النقال الكاظمة هذه ـ والتي تتشكل عادة نتيجة تغيرات في مناطقها المقابلة للرامزة ـ كَظْم الطفرات المغلطة والهرائية وطفرات إزاحة الإطار. ولكن، وبما أن هذه الجزيئات لا تستطيع التمييز بين الرامزة السوية وتلك الناجمة عن طفرة جينية، لذا يؤدي وجودها في الخلية عادة إلى نقص الحيوية (العيوشية: Viability) فعلى سبيل المثال، يمكن أن تكظم جزئيات الرنا النقال الكاظمة الهرائية إشارات الإنهاء السوية للسماح بالقراءة عبرها عندما لا يكون ذلك مرغوباً. كما يمكن أن تقرأ جزيئات الرنا النقال الكاظمة بإزاحة الإطار رامزة سوية مع مكون من رامزة مجاورة لإعطاء إزاحة الإطار، ويحدث ذلك أيضاً عندما لا تكون مرغوبة. وقد توجد جزيئات الرنا النقّال الكاظمة في خلايا الثدييات.

يمكن وصف تخليق البروتينات بتقسيمها إلى ثلاثة أطوار: الابتداء والتطويل والإنهاء:

لقد شرحنا الخصائص البنيوية العامة للريباسات وعملية تجميعها الذاتي في (الفصل 39). وتعمل هذه الكيانات الخاصة كآلات أو أجهزة تترجم عليها المتوالية النوكليوتيدية للرنا المرسال إلى متوالية الأحماض الأمينية للبروتين المخصص. وتبدأ ترجمة الرنا المرسال قرب نهايته ´5 لتتشكل النهاية الأمينية الموافقة لجزيء البروتين. وتقرأ الرسالة من ´5 إلى ´3 لتنتهي بتشكيل النهاية الكربوكسيلية للبروتين. ويكون مفهوم القطبية واضحاً ثانية. وكما وصفنا في (الفصل 39)، يشكل انتساخ الجين إلى الرنا المرسال الموافق أو سلفه النهاية ´5 أولاً، ويسمح هذا في

طليعيات النوى ببدء ترجمة جزيء الرنا المرسال حتى قبل استكمال انتساخه. وأما حقيقيات النوى، فعملية الانتساخ تحدث في النواة، أما الترجمة فتجري في الهيولى، وهذا ما يحول دون تزامن الانتساخ والترجمة ويعزز إمكانية المعالجة الضرورية لتوليد الرنا المرسال الناضج من المُنتَسَخ الأولي (hnRNA).



الشكل 6-40 : إيضاح تأثيرات الخَبْن والغرز في الجين على تسلسل مُنتَسَخ الرنا المرسال وسلسلة عديد الببتيد المترجمة وفقاً لذلك. وتشير الأسهم إلى مواقع الخَبْن والغرز، كما تشير الأعداد في الدوائر إلى عدد ثمالات النوكليوتيد التي تعرضت للخَبْن أو الغرز.

يشمل ابتداء التخليق عدة معقدات بروتينية رناوية (الشكل 40-7):

يتطلب ابتداء التخليق البروتيني اختيار جزيء رنا مرسال لترجمته على الريباسة. وعندما يرتبط الرنا المرسال في الريباسة، تكتشف الأخيرة إطار القراءة الصحيح على الرنا المرسال، وتبدأ الترجمة. وتشمل هذه العمليةُ في حقيقيات النوى كلاً من الرنا النقّال (tRNA) والرنا الريباسي (rRNA) والرنا المرسال (mRNA) وما لا يقل عن عشرة عوامل ابتداء (Initiation factors “eIFs”) يتكون بعضها من عدة وحيدات (3-8) والنوكليوتيد GTP والأتب (ATP) والأحماض الأمينية. ويمكن تقسيم ابتداء التخليق إلى 4 خطوات: (1) افتراق الريباسة إلى وحيدتيها الصغيرة (40S) والكبيرة (60S)؛ (2) ارتباط المعقد الثالثي (Ternary) المكون من ميثيونيل الرنا النقال الابتدائي (Met-tRNAI) والنوكليوتيد GTP والعامل eIF-2 ـ بالريباسة 40S لتشكيل معقد ما قبل الابتداء؛ (3) ارتباط الرنا المرسال بالمعقد ما قبل الابتداء 40S لتشكيل معقد الابتداء 34S؛ (4) ارتباط معقد الابتداء 34S مع الوحيدة الريباسية 60S لتشكيل معقد الابتداء 80S.

1– **التفارق الريباسي**: يرتبط عاملا الابتداء eIF-3 و eIF-1A بالوحيدة الريباسية 40S المتفارقة حديثاً مما يعيق ارتباطها بالوحيدة 60S ويسمح لعوامل ابتداء الترجمة الأخرى بالارتباط معها.

2 – **تشكيل معقد ما قبل الابتداء 43S**: تشمل الخطوة الأولى في هذه العملية ارتباط النوكليوتيد GTP بالعامل eIF-2. وبعد ذلك، يرتبط هذا المعقد الثنائي بميثيونيل الرنا النقّال الابتدائي (met-tRNAi) الذي يلعب دوراً نوعياً في الارتباط برامزة الابتداء AUG. (هناك نوعان من الرنا النقال للميثيونين: يخصص الأول الميثيونين لرامزة الابتداء، والثاني لثمالات الميثيونين الداخلية؛ ولكل منهما متوالية نوكليوتيدية متميزة). ويرتبط هذا المعقد الثلاثي الناتج بالوحيدة الريباسية 40S لتشكيل المعقد ما قبل الابتداء 34S، والذي يثبت بالارتباط مع eIF-3 و eIF-lA.

يعد عامل الابتداء eIF-2 أحد موضعَي التحكم بابتداء التخليق البروتيني في خلايا حقيقيات النوى. وهو يتألف من الوحيدات ألفا وبيتا وجاما. وتُفَسفَت الوحيدة eIF-2α (على السيرين 51) بثلاث كينازات بروتينية مختلفة (HCR وPKP

وGCN2) تتنشط عندما تكون الخليـة تحت تـأثيـر الكرب (Stress) وعندمـا يصـبح إنفاق الطاقة اللازم للتخليق البروتيني مؤذياً. وتشمل هذه الحالات جوع الأحماض الأمـينية والجلوكوز والعدوى الڤـيروسـية والحـرمان من المصل وفرط الأسـمولية وصدمة الحرارة.

يرتبط eIF-2α المُفَسفَت ارتباطاً قوياً بالبروتين المنشط لدورة التحول بين النوكليوتيد GTP والنوكليوتيد GDP، أي العامل eIF-B2، ويعطله. وهذا ما يمنع تشكيل المعقد قبل الابتداء 34S، ويعطل التخليق البروتيني.

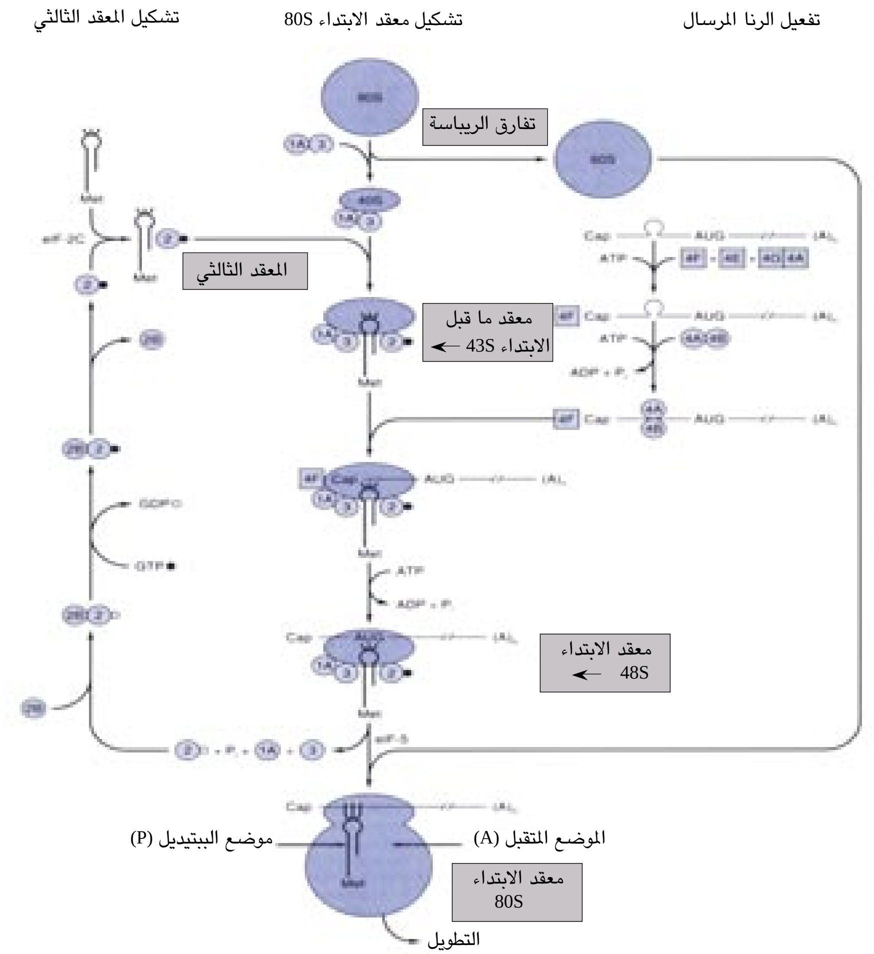
3 – تشكيل معقد الابتداء 34S: تحتوي النهاية ´5 لمعظم جزيئات الرنا المرسال في خلايا حقيقيات النوى على القلنسوة (الفصل 39) التي تيسر ارتباط الرنا المرسال بمعقد ما قبل الابتداء 43S.ويرتبط المعقد البروتيني الرابط للقلنسوة [eIF-4F (4F)]، المؤلف من eIF-4E و eIF-4G، بالقلنسوة من خلال البروتين 4E؛ ثم يرتبط eIF-4A (4A) و eIF-4B (4B) ليقوما بإنقاص البنية الثانوية المعقدة للنهاية ´5 من الرنا المرسال بواسطة نشاط الأتباز (ATPase) والهيليكاز المعتمدة على الأتب (ATP). ويتطلب ارتباط الرنا المرسال بمعقد ما قبل الابتداء 43S لتشكيل معقد الابتداء 48S حلمهة الأتب (ATP)، ويكون eIF-3 هو البروتين الرئيسي في هذه العملية لأنه يرتبط بألفة عالية بالمكون 4G من 4F، ويربط هذا المعقد بالوحيدة الريباسية 40S.

بعد ارتباط معقد ما قبل الابتداء 43S بقلنسوة الرنا المرسال وإنقاص (صهر) البنية الثانوية قرب النهاية ´5 للرنا المرسال، يتفرس المعقد الرنا المرسال بحثاً عن رامزة ابتداء مناسبة. وغالباً ما تكون هذه الأخيرة هي الرامزة AUG الأقرب للنهاية ´5، لكن رامزة الابتداء الدقيقة تتحدد بما يدعى المتواليات الاتفاقية لكوزاك (Kozak) التي تحيط بالرامزة AUG:

-3 -1 +4

GCCA/GCCAUGG

وأفضل الحالات هي وجود البورين عند الموضعين -3 و +4 نسبة للرامزة AUG.



الشكل 40-7: رسم تخطيطي لابتداء التركيب البروتيني على مِرصاف الرنا المرسال الذي يحتوي على القلنسوة (GmTP) ´5 والذيل عديد الأدينيلات في النهاية $[3´ (A)_n]$ وتتقدم هذه العملية عبر ثلاث خطوات: (1) تفعيل الرنا المرسال، (2) وتشكيل المعقد الثلاثي المؤلف من $tRNA\ met^i$ وعامل الابتداء eIF-2 والنوكليوتيد GTP، (3) وتشكيل معقد الابتداء الفعال أو النشيط 80S (انظر النص للوقوف على التفاصيل). الدائرة الصغيرة المطموسة: النوكليوتيد GTP؛ الدائرة الصغيرة البيضاء: النوكليوتيد GDP. وتظهر مختلف عوامل الابتداء بشكل رموز دائرية أو مربعة (مثال العامل eIF-3: (r) والعامل 4F : eIF-4F؛ أما العامل 4F فهو معقد يتألف من 4E و 4E مرتبطين بالمعقد 4G (انظر الشكل 40-8). ويشكل تجمع العوامل البروتينية والوحيدة الريباسية 40S معقد ما قبل الابتداء 43S الذي يشكل معقد ما قبل الابتداء 48S.

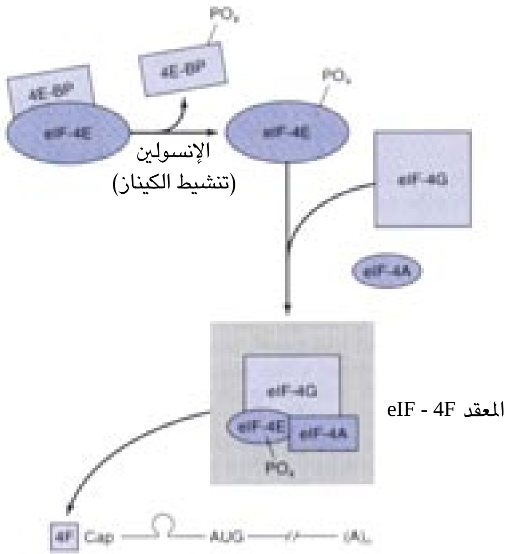
4- تشكيل معقد الابتداء 80S: يشمل ارتباط الوحيدة الريباسية 60S بمعقد الابتداء 48S حلمهة النوكليوتيد GTP المرتبط بالعامل eIF-2 بواسطة العامل eIF-5. ويؤدي هذا التفاعل إلى تحرير عوامل الابتداء المرتبطة بمعقد الابتداء 48S (ثم تعاد دورة هذه العوامل) والارتباط السريع للوحيدتين 40S و 60S لتشكيل الريباسة 80S. وعندها يكون met-tRNAi على الموضع P من الريباسة، وهو بذلك جاهز لبدء دورة التطويل.

تنظيم العامل eIF-4E يتحكم بمعدل الابتداء:

يكون المعقد 4F مهماً بشكل خاص في التحكم بمعدل ترجمة البروتين. ويتكون هذا المعقد، كما وصفنا سابقاً، من 4E، الذي يرتبط بالقلنسوة m^7G عند النهاية 5´للرنا المرسال، و 4G الذي تفيد كبروتين دعامي (Scaffolding). وفضلاً عن ارتباطه بالمعقد 4E، يرتبط 4G بالعامل eIF-3 الذي يربط المعقد بالوحيدة الريباسية 40S. كما يربط 4A و 4B، وهو معقد الهيليكاز والأتباز الذي يساعد على فك التفاف الرنا (الشكل 40-8). يكون 4E مسؤولاً عن التعرف على بنية قلنسوة الرنا المرسال، الخطوة المحددة لمعدل الترجمة. وتُنَظَّم هذه العملية على مستويين: يعمل الإنسولين وعوامل النمو المكونة للانقسام على فَسفَتة 4E على السيرين 209 (أو الثريونين 210)، ويرتبط 4E المُفَسفَت بالقلنسوة بشراهة أكبر بكثير مما يفعله 4E غير المُفَسفَت مما يعزز معدل الابتداء. ويبدو أن هناك مكوناً من سبيل كيناز الـ MAP (انظر الشكل 51-10) يساهم في تفاعل الفَسفَتة هذا.

يُنظَّم نشاط 4E بطريقة ثانية تشتمل على الفَسفَتة أيضاً. وقد اكتشفت حديثاً مجموعة من البروتينات التي ترتبط بالمركب 4E وتعطله، ومنها المعقد 4E-BP1 (يدعى BP1 أيضاً بالاسم PHAS-1) وبروتينات مرتبطة ببعضها ارتباطاً وثيقاً هي 4E-BP2 و 4E-BP3. ويرتبط BP1 بألفة عالية مع 4E. ويمنع التفاعل [BP1]. [4E] المركب 4E من الارتباط مع 4G لتشكيل 4F. وبما أن هذا التآثر ضروري لارتباط 4F بالوحيدة الريباسية 40S وتوضعه بشكل صحيح على الرنا المرسال ذي القلنسوة، لذلك يثبِّط BP-1 ابتداء الترجمة بشكل فعال.

يؤدي الإنسولين وعوامل النمو الأخرى إلى فَسفَتة BP-1 عند 5 مواضع متميزة. كما تؤدي فَسفتة BP-1 إلى افتراقه عن 4E، ولا يمكن أن يرتبط ثانية إلا بعد نزع كل جذور الفسفات. ولم تكشف كيناز بروتينية مسؤولة عن ذلك، لكن يبدو أنه مختلف عن ذلك الذي يُفَسْفَت 4E. وأن كينازاً ما في الهدف الثديي لسبيل الرَّبَاميسين (mTOR)، وربما هي mTOR نفسها تساهم في ذلك. وتفسِّر هذه التأثيرات في تنشيط 4E، جزئياً، كيفية إحداث الإنسولين لزيادة واضحة في تخليق البروتين في الكبد والنسيج الدهني والعضل بعد الانتساخ.



الشكل 40-8 : تنشيط eIF-4E بالإنسولين وتشكيل المعقد eIF-4F الرابط للقلنسوة. لقد تم ترسيم معقد الرنا المرسال والقلنسوة و4F كما في (الشكل 40-7). ويتألف المعقد 4 F من العامل (4E) eIF-4E والعامل eIF-4A والعامل eIF-4G، ويكون E4 معطلاً عندما يرتبط بأحد فصائل بروتينات الارتباط (4E-BPs) . وينشط الإنسولين والعوامل المولدة للانقسام (مثل عامل النمو الشبيه بالإنسولين (IGF-1)) وعامل النمو المشتَق من الصفيحات (PDGF) والأنترلوكين – 2 والأنجيوتنسين II كيناز سيرين البروتين في السبيل mTOR فَيُفَسفَت المعقد 4E-BP مما يؤدي لافتراقه عن 4E. ثم يصبح هذا الأخير قادراً على تشكيل المعقد 4F والارتباط بقلنسوة الرنا المرسال. كما تُفَسفَت ببتيدات النمو هذه العامل 4E نفسه بتنشيط أحد مكونات سبيل كيناز الـ MAP. ويرتبط 4E المُفسفَت مع القلنسوة بشراهة أكبر مما يفعله 4E غير المُفسفَت.

يعد التطويل عملية عديدة الخطوات أيضاً (الشكل 40-9):

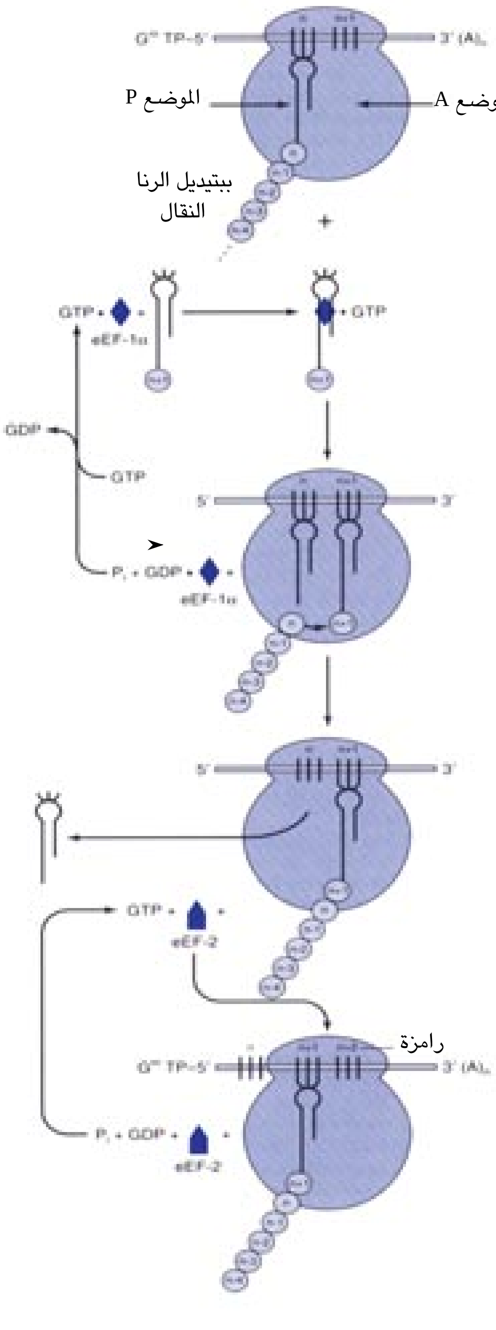
تشمل عملية التطويل الحلقية عدة خطوات محفزة ببروتينات تدعى عوامل التطويل (eEF)، وهذه الخطوات هي: (1) ارتباط أمينوأسيل الرنا النقال بالموضع A، (2) وتشكيل الرابطة الببتيدية، (3) والإزفاء (Translocation).

1 – ارتباط أمينو أسيل الرنا النقال بالموضع A: يكون المقر أو الموضع A (موضع الأمينوأسيل أو المتقبل) في الريباسة 80S الكاملة المتشكلة في أثناء عملية الابتداء حراً أو فارغاً. ويتطلب ارتباط أمينو أسيل الرنا النقال المناسب بالموضع A تعرُّفاً مناسباً على الرامزة.

يشكل عامل التطويل eEF-1α معقداً مع النوكليوتيد GTP وأمينو أسيل الرنا النقال الداخل (الشكل 40-9) يسمح بدخول أمينو أسيل الرنا النقال إلى الموضع A ويتحرر العامل eEFlα-GDP والفسفات، ثم يعاد تحويل العامل eEF-1α-GDP إلى eEF-1α GTP (الشكل 40-9) بمساعدة عوامل بروتينية ذوابة أخرى والنوكليوتيد GTP.

2– تشكيل الرابطة الببتيدية: تقوم الزمرة الأمينية ألفا في أمينو أسيل الرنا النقال الجديد الموجود في الموضع A بمهاجمة أليفة للنوى على المجموعة الكربوكسيلية المؤسترة لببتيديل الرنا النقال الذي يشغل الموضع P (موضع الببتيد أو عديد الببتيد) الذي يكون مشغولاً عند الابتداء بالمركب Aminoacyl-tRNA met^{i}. ويحفز هذا التفاعل بناقلة الببتيديل (Peptidyltransferase)، أحد مكونات الرنا 28S من الوحيدة الريباسية 60S. وهذا مثال آخر عن النشاط الإنزيمي الريباسي (الريبوزيمات) يشير إلى دور مهم مباشر وغير متوقع سابقاً للرنا في التخليق البروتيني (الجدول 40-3).

وبما أن الحمض الأميني على أمينو أسيل الرنا النقال «منشط» مسبقاً، فليس هناك حاجة لمزيد من الطاقة لهذا التفاعل. ويؤدي التفاعل إلى ارتباط السلسلة الببتيدية المتنامية مع الرنا النقال في الموضع A.



الشكل 40-9 : ترسيم لعملية تطويل الببتيد في التخليق البروتيني. تمثل الدوائر الصغيرة الموسومة بالرمز n-1 و n وn+1 ...إلخ ثمالات الأحماض الأمينية في جزيء البروتين المتشكل حديثاً. كما يمثل eEF-1α و eEF-2 عاملي التطويل 1 و 2 على الترتيب. وقد جرى تمثيل موضعي ببتيديل الرنا النقال وأمينوأسيل الرنا النقال على الريباسة بالموضع P والموضع A على الترتيب.

* يمكن أن تصنع الريباسات روابط ببتيدية حتى بعد نزع البروتينات وتعطيلها.
* تكون بعض أجزاء متوالية الرنا النقال مصانة بشكل كبير فيكل الأنواع.
* وتتوضع هذه المناطق المصانة على سطح جزيء الرنا.
* يمكن أن يكون الرنا محفزاً.
* تواتر وجود الطفرات التي تؤدي إلى مقاومة المضادات الحيوية على مستوى التخليق البروتيني أكثر في الرنا (RNA) النقال منه في المكونات البروتينية للريباسات.

الجدول 40-3 : الأدلة على كون الرنا النقال ناقلة ببتيديل.

3 – الإزفاء (Translocation) : عند نزع جزيء الببتيديل من الرنا النقال في الموضع P يفارق الرنا النقال المتحرر بسرعة الموضع P. ويكون عامل التطويل 2 (eEF-2) والنوكليوتيد GTP مسؤولين عن إزفاء ببتيديل الرنا النقال المتشكل حديثاً من الموضع A إلى الموضع P الفارغ. ويحلمه النوكليوتيد GTP اللازم للعامل eEF-2 إلى GDP وفسفات خلال عملية الإزفاء؛ ويحرر إزفاء ببتيديل الرنا النقال المتشكل حديثاً ورامزته الموافقة إلى الموضع P الموضع A لدورة جديدة من التعرف على رامزة أمينوأسيل الرنا النقال الجديد والتطويل.

يتطلب شحن جزيء الرنا النقال بجزيء الأمينوأسيل حلمهة الأتب (ATP) إلى الأمب (AMP)، وهذا يكافئ حلمهة جزيئين من الأتب إلى جزيئين من الأدب ADP ومجموعتي فسفات. كما يؤدي دخول أمينوأسيل الرنا النقال إلى الموضع A إلى حلمهة جزيء واحد من النوكليوتيد GTP إلى النوكليوتيد GDP تماماً مثلما يؤدي إزفاء ببتيديل الرنا النقال المتشكل حديثاً من الموضع A إلى الموضع P بواسطة eEF-2 إلى حلمهة النوكليوتيد GTP إلى النوكليوتيد GDP والفسفات. وهكذا، تشتمل متطلبات الطاقة اللازمة لتشكيل رابطة ببتيدية واحدة حلمهة جزيئين من

الأتب (ATP) إلى النوكليوتيد AMP وحلمهة جزيئين من النوكليوتيد GTP إلى GDP أو حلمهة أربع روابط فسفاتية عالية الطاقة. تحدث هذه العملية بسرعة. ويمكن أن تدمج كل ريباسات حقيقيات النوى ما يصل حتى 6 أحماض أمينية في الثانية؛ في حين تدمج كل ريباسات طليعيات النوى ما يصل حتى 18 منها في الثانية. وهكذا، تحدث عملية التخليق الببتيدي بسرعة كبيرة ودقة عالية حتى بلوغ رامزة الإنهاء.

يحدث الإنهاء عند التعرف على رامزة هرائية (الشكل 40-10):

إن عملية الإنهاء بسيطة نسبياً بالمقارنة مع الابتداء والتطويل؛ فبعد عدة دورات من التطويل تُتوَّج ببلمرة الأحماض الأمينية النوعية إلى جزيء بروتيني، تظهر الرامزة الهرائية أو رامزة الإنهاء على الرنا (RNA) المرسال (UUA، UAG، UAG) في الموضع A. وليس هناك، في الحالة السوية، رناً نقال ذو مقابلة رامزة قادرة على التعرف على إشارة الإنهاء هذه.

بدلاً من هذا، تستطيع عوامل الإطلاق (Releasing factors “eRF”) في حقيقيات النوى التعرف على إشارة الإنهاء الموجودة في الموضع A (الشكل 40-10) لتقوم ـ بالاشتراك مع النوكليوتيد GTP وناقلة الببتيديل ـ بتحريض حلمهة الرابطة بين الببتيد والرنا النقال الذي يشغل الموضع P. وهكذا، يضاف جزيء ماء وليس حمضاً أمينياً. وخلال الحلمهة والتحرير تتفارق الريباسة 80S إلى وحيداتها 40S و 60S لتعاود الكرة (الدورة). هذا يعني أن عوامل الإطلاق هي بروتينات تحلمه الرابطة بين الببتيديل والرنا النقال عندما تشغل رامزة هرائية الموضع A. وبعد ذلك، يتحرر الرنا المرسال من الريباسة التي تفترق إلى وحيداتها المكونة 40S و 60S، ويمكن أن تتكرر دورة أخرى.

عديدات الريباسات هي تجمعات من الريباسات:

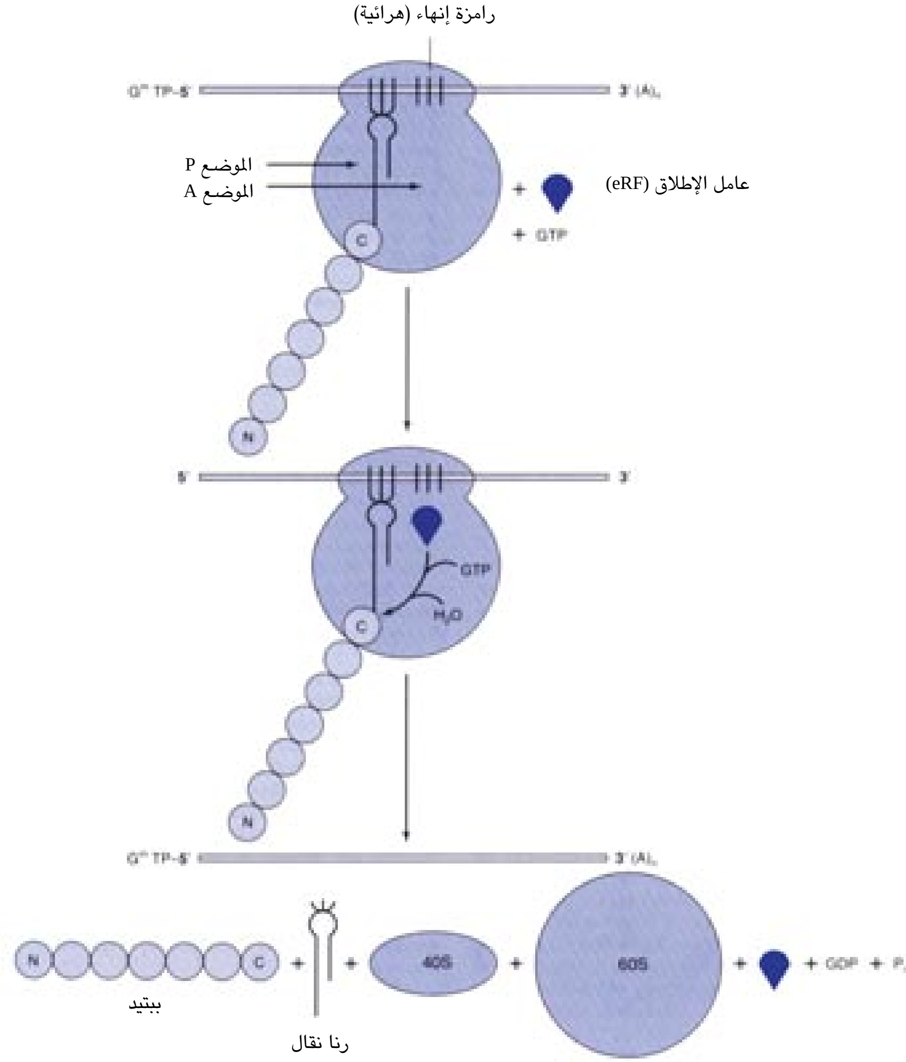
يمكن أن تترجم عدة ريباسات جزيء الرنا المرسال نفسه في الوقت نفسه.

وبسبب الحجم الكبير نسبياً لجزيئات الريباسات، فهي لا تستطيع الارتباط معاً بجزيء الرنا المرسال ما لم تكن المسافة بينها أكثر من 80 نوكليوتيداً. وتشكل الريباسات المتعددة المجتمعة على جزيء الرنا المرسال نفسه ما يسمى عديد الريباسات (Polyribosome) أو الريباسة (Polysome). ويتناسب عدد الريباسات المتصلة بجزيء رناً مرسال واحد (وبالتالي حجم عديد الريباسات) في الجمل غير المقيدة طرداً مع طول جزيء الرنا المرسال. وتكون كتلة جزيء الرنا المرسال بالطبع صغيرة جداً بالمقارنة مع كتلة حتى ريباسة واحدة.

تستطيع ريباسة واحدة في الثدييات تخليق نحو 400 رابطة ببتيدية في الدقيقة. ويمكن أن توجد عديدات الريباسات النشطة المركبة للبروتين كجسيمات حرة في الهيولى الخلوية، أو قد تكون مرتبطة بصفائح من مادة هيولية غشائية تدعى الشبكة الهيولية الباطنة. وهذا الارتباط لعديدات الريباسات بالشبكة الهيولية الباطنة هو المسؤول عن مظهرها الخشن المُشاهَد بالمجهر الإلكتروني. وتبرز البروتينات المُصنَّعة بواسطة عديدات الريباسات المرتبطة إلى الحيز الصهريجي بين صفائح الشبكة الباطنة الخشنة، وتصدر من هناك. وتُعلّب بعض هذه البروتينات في جهاز جولجي ضمن جسيمات مكونة للإنزيمات لتصديرها في نهاية المطاف (انظر الفصل 34). أما عديدات الريباسات الحرة في الهيولى فمسؤولة عن تخليق البروتينات اللازمة للوظائف داخل الخلايا.

تستطيع أجهزة تخليق البروتين الاستجابة لتهديدات البيئة المحيطة وأخطائها:

يمنع الفريتين (Ferritin)، البروتين الرابط للحديد، وصول الحديد المؤين Fe^{2+} إلى مستويات سامة ضمن الخلية. وينبه عنصر الحديد تخليق الفريتين عبر تحرير بروتين هيولي مرتبط بمنطقة نوعية في المنطقة ´5 غير المترجمة من الرنا المرسال للفريتين. يقوم هذا الخلل في التآثر بين البروتين والرنا المرسال للفريتين بتنشيط الأخير مما يؤدي إلى ترجمته. وتؤمن هذه الآلية تحكماً سريعاً بتخليق البروتين الذي يحتجز (يوشظ: Sequestrate) الحديد الثنائي ذا التأثيرات السمية.



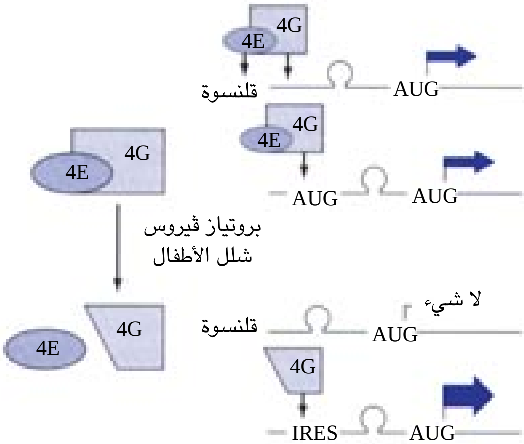
الشكل 40-10 : ترسيم لعملية إنهاء التخليق البروتيني. لقد أشير إلى مواضع ببتيديل الرنا النقال وأمينوأسيل الرنا النقال بالموضع P والموضع A على الترتيب. وتتضح حلمهة معقد ببتيديل الرنا النقال بإدخال الماء، ويشير الحرفان N و C إلى الأحماض الأمينية في النهاية الأمينية والكربوكسيلية للببتيد على الترتيب، ويظهران قطبية تخليق البروتينات.

تشارك الكثير من الڤيروسات الخلية المضيفة في آلات التخليق البروتيني:

يمكن أن تعدل آلات التخليق البروتيني أيضاً بطرق مؤذية؛ فالڤيروسات تتكاثر باستعمال العمليات الخلوية للمضيف بما في ذلك تلك المساهمة في تخليق البروتين. وتترجم بعض أشكال الرنا المرسال الڤيروسية بكفاءة أكبر بكثير من تلك الخاصة بخلية المضيف (مثل ڤيروس منجو (Mengo) وڤيروس التهاب الدماغ وعضلة القلب). وتقوم ڤيروسات أخرى، كالڤيروس الريوي (Reovirus) وڤيروس التهاب الفم الحويصلي، بالتنسخ بغزارة، مما يعطيها الأفضلية في المنافسة مع رنا خلية المضيف المرسال على عوامل الترجمة المحدودة. وهناك ڤيروسات أخرى تثبِّط التخليق البروتيني في خلية المضيف عبر منع ارتباط الرنا المرسال بالريباسة 40S.

يكتسب ڤيروس التهاب سنجابية النخاع (شلل الأطفال: Poliovirus) والڤيروسات البيكورناوية (Picornaviruses) الأخرى أفضلية انتقائية بتخريب وظيفة المعقد 4F لصالحها. ولا يكون للرنا المرسال في هذه الڤيروسات بنية قلنسوية لتوجيه ارتباط الوحيدة الريباسية 40S (انظر آنفاً)؛ وبدلاً من ذلك تَمَس الوحيدة الريباسية 40S موضع دخول ريباسياً داخلياً (Internal ribosomal entry site "IRES") في تفاعل يتطلب 4G وليس E4. ويكتسب الڤيروس مزية انتقائية بامتلاكه بروتيازاً تهاجم 4G وتنزع منها النهاية الأمينية لمقر ارتباط 4E مما يمنع تشكل المعقد 4G - 4E (أي 4F)، ولذلك لا يمكن توجيه الوحيدة الريباسية 40S إلى الرنا المرسال ذي القلنسوة، وتتوقف ترجمة الرنا المرسال في خلية المضيف. ويمكن أن توجه الشدفة 4G ارتباط الوحيدة الريباسية 40S برنا مرسال يحتوي على IRES، وبذلك تكون ترجمة الرنا المرسال الڤيروسي فعالة جداً (الشكل 40-11).

كما تحرض هذه الڤيروسات نزع الفسفات من BP1، ومن ثم تنقص الترجمة المعتمدة على القلنسوة (4E).



الشكل 40-11 : تخرب الڤيروسات البيكورناوية المعقد 4F. يوجه المعقد 4E•4G (أي 4F)الوحيدة الريباسية 40S إلى الرنا المرسال ذي القلنسوة النموذجية (انظر النص). ويكفي العامل 4G وحده لتهديف الوحيدة S40 نحو موضع الدخول الريباسي الداخلي (IRES) للرنا المرسال الڤيروسي. وحتى تكتسب بعض الڤيروسات (مثل ڤيروس التهاب سنجابية النخاع ـ شلل الأطفال) أفضلية انتقائية يكون لها بروتياز يشطر موضع ارتباط 4E عن النهاية الأمينية للمعقد 4G؛ ويمكن أن يوجه 4 G المبتور الوحيدة الريباسية 40S إلى الرنا المرسال الذي يمتلك الموضع IRES، ولكنه لا يستطيع توجيهه إلى ذي القلنسوة. ويشير عرض الأسهم إلى معدل ابتداء الترجمة من الرامزة AUG في كل مثال.

تؤثر المعالجة بعد الترجمة في نشاط عددٍ من البروتينات:

تخلق بعض الڤيروسات الحيوانية، لا سيما ڤيروسات التهاب سنجابية النخاع والتهاب الكبد A، بروتينات طويلة عديدة المَقَارين (عديدة الجينات (Polycistronic)) من جزيء واحد طويل من الرنا المرسال. وتنشطر هذه الجزيئات البروتينية لاحقاً عند مواضع نوعية لتأمين عدد من البروتينات النوعية اللازمة لوظيفة الڤيروس. ويخلق الكثير من البروتينات في الخلايا الحيوانية من مِرصاف الرنا المرسال

كجزيء طليعي (سلف) ينبغي تحويره للحصول على البروتين النشيط. ومثالنا على ذلك هو الإنسولين، وهو بروتين منخفض الوزن الجزيئي مكون من سلسلتين ببتيديّتَيْن ويحتوي على روابط ثنائية السلفيد بين السلاسل وضمنها. ويجري تخليق الجزيء بشكل سلسلة واحدة طليعيّة أو هرمون طليعي (Prohormone) يتطوى ليسمح بتشكّل جسور ثنائية السلفيد؛ ثم تقوم بروتياز نوعية باستبعاد الشدفة التي تصل بين السلسلتين اللتين تشكلان جزيء الإنسولين الوظيفي (انظر الشكل 51-3). يجري تخليق العديد من الببتيدات الأخرى بشكل بروتينات طليعية تتطلب أشكالاً من التحوير قبل أن تكتسب نشاطاً بيولوجياً. ويشمل الكثير من أشكال التحوير بعد الترجمة نزع ثمالات أحماض أمينية ذات نهاية أمينية بإنزيمات أمينوببتيداز نوعية؛ فالكولاجين ـ وهو بروتين وافر في الأحياز خارج الخلايا في حقيقيات النوى العليا ـ يصطنع بشكل طليعة الكولاجين. وتتراصف ثلاثة جزيئات من طلائع الكولاجين غير المتماثلة عادة مع بعضها بطريقة تعتمد على وجود ببتيدات نوعية في النهاية الأمينية؛ ثم تقوم إنزيمات معينة بإضافة الهيدروكسيل وأكسدة ثمالات نوعية من الأحماض الأمينية ضمن جزيئات طليعة الكولاجين لتشكيل روابط متصالبة تؤمن المزيد من الثباتية والاستقرار للجزيء. ثم تُنزع النهايات الببتيدية المطرافية الأمينية من الجزيء لتشكيل الناتج النهائي، وهو جزيء الكولاجين القوي غير الذوَّاب (الفصل 57). وتحدث عدة أشكال أخرى من تحوير البروتينات بعد الترجمة كالتحوير التساهمي بالأستلة والفَسفَتة وإضافة الجليكوزيل على سبيل المثال.

ينجم تأثير الكثير من المضادات الحيوية عن قدرتها على التثبيط الانتقائي للتخليق البروتيني الجرثومي:

تختلف ريباسات الجراثيم وتلك الموجودة في متقدرات خلايا حقيقيات النوى العليا عن الريباسات الثديية الموصوفة في (الفصل 37). فالريباسة الجرثومية أصغر (70S وليس 80S) وتتكون من مجموعة من جزيئات الرنا والبروتين تختلف عنها في حقيقيات النوى وأبسط منها نوعاً ما. ويستثمر هذا الفارق لأغراض سريرية لأن الكثير من المضادات الحيوية الفعالة تتآثر بشكل نوعي مع البروتينات

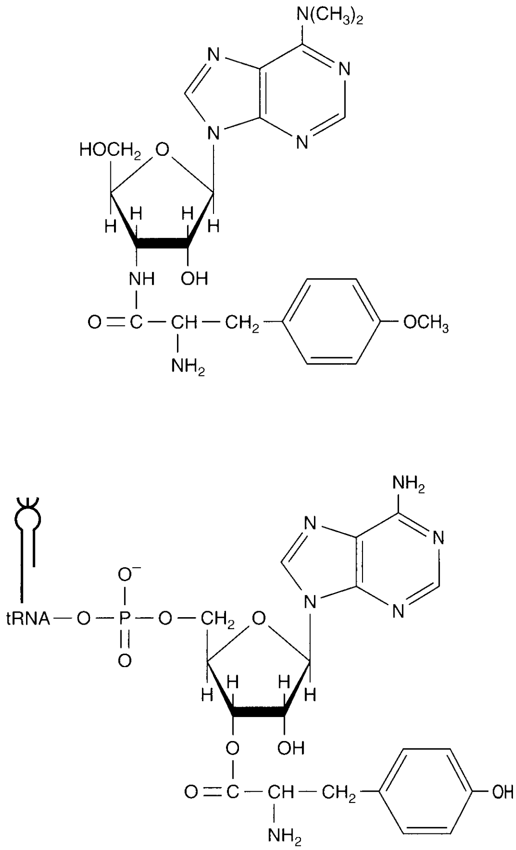
وأشكال الرنا في ريباسات طليعيات النوى، ومن ثم تثبِّط التخليق البروتيني، مما يؤدي إلى توقف نمو الجرثومة أو موتها. ولا تتآثر أكثر صفوف هذه المضادات الحيوية نفعاً (كالتتراسكلينات واللينكوميسين والإرثرومَيسين والكلورامفينيكول) مع مكونات الجزيئات الريباسية لحقيقيات النوى؛ ومن ثم فهي غير سامة لحقيقيات النوى. ويمنع التتراسكلين ارتباط أمينوأسيل الرنا النقال بالموضع A؛ أما الكلوروميسيتين وصف المَكْروليدات من المضادات الحيوية فيعملان من خلال الارتباط بالرنا الريباسي 23S، الذي يعدُّ أمراً لافتاً للنظر في ضوء الدور المقدر حديثاً للرنا الريباسي في تشكيل الرابطة الببتيدية.

تثبط مضادات حيوية أخرى التخليق البروتيني بكافة الريباسات (البوروميسين (Puromycin)) أو بتلك الخاصة بحقيقيات النوى فقط (السِّكْلوهِكْسيميد (Cycloheximide)) والبوروميسين (الشكل 40-12) مضاهئ بنيوي لتيروزينيل الرنا النقال، وهو ينجبل عبر الموضع A على الريباسة مع النهاية الكربوكسيلية للببتيد، لكنه يؤدي إلى إطلاق باكر لعديد الببتيد؛ وهو بذلك يثبط، كمضاه لتيروزينيل الرنا النقال، التخليق البروتيني في كل من طليعيات النوى وحقيقيات النوى بشكل فاعل. أما السِّكْلوهِكْسيميد فيثبِّط ناقلة الببتيديل في الوحيدة الريباسية 60S في حقيقيات النوى، ربما عن طريق ارتباطه مع أحد جزيئات الرنا الريباسي.

يحفز ذيفان الخناق (الدفتيريا)، وهو ذيفان خارجي للوتدية الخناقية المَعدية بعاثية حالة نوعية، إضافة ريبوزيل الأدب (ADP) إلى eEF-2 في خلايا الثدييات فيتعطّل هذا الأخير ويتثبط التخليق البروتيني في الثدييات بشكل نوعي. ويكون الكثير من الحيوانات (مثل الفئران) مقاومة لذيفان الخناق. وتنجم هذه المقاومة عن عجز ذيفان الخناق عن عبور الغشاء الخلوي، وليس عن عدم حساسية eEF-2 الفأري لإضافة ريبوزيل ـ ADP المُحفِّز بذيفان الخناق.

يعطل الريسين (Ricin)، وهو جزيء سمي جداً يعزل من فولة الخروع (Castor bean)، الرنا الريباسي 28S في حقيقيات النوى عبر شطر الرابطة الجليكوزيدية أو نزع جزيء واحد من الأدينين. ولا يكون للكثير من هذه المركبات، لا سيما البوروميسين والسِّيكْلوهِكْسيميد، فائدة سريرية لكنه مهم في إيضاح دور التخليق

البروتيني على صعيد تنظيم العمليات الأيضية، لاسيما التحريض الإنزيمي بالهرمونات.



الشكل 12-40: مقارنة بنيوية بين المضاد الحيوي، البوروميسين (في الأعلى) والجزء الطرفي 3َلتيروزينيل الرنا النقال (في الأسفل).

الخلاصة:

يتبع جريان المعلومات الجينيَة المسار التالي:

الدنا ← الرنا ← البروتين

تُنتَسَخ المعلومات الجينية المُخَزَّنة في المنطقة البنيوية من الجين إلى جزيء رنا متواليته متممة لمتوالية الدنا. وتساهم عدة أنماط مختلفة من الدنا، بما في ذلك الرنا الريباسي (rRNA) والرنا النقَّال (tRNA) والرنا المرسال (mRNA)، في التخليق البروتيني، وربما بدور مُحَفِّز مباشر في حالة الرنا الريباسي. وتكون المعلومات في الرنا المرسال بشكل مصفوفة ترادفية من الروامز ثلاثية الأحرف (مكونة من ثلاثة نوكليوتيدات) غير المتشابهة، وغير المتقطعة بحيث يقرأ الرنا المرسال بشكل مستمر من الرامزة الابتدارية AUG إلى رامزة الإنهاء (UAA أو UAG أو UGA) وتحصر هذه الروامز إطار القراءة المفتوح من الرنا المرسال، والذي هو مجموعة من الروامز يخصص كل منها حمضاً أمينياً معيناً لتتحدد متوالية الأحماض الأمينية الدقيقة للبروتين الذي سوف يتشكل. ويكون لبعض الأحماض الأمينية رامزة واحدة (كالميثيونين والتريبتوفان)، في حين يمكن ترميز بعضها الآخر بما يصل حتى 6 روامز مختلفة (اللوسين والسيرين).

يتبع التخليق البروتيني، كتخليق الدنا والرنا، القطبية ´5 إلى ´3، ويمكن تقسيمه إلى ثلاث مراحل: الابتداء والتطويل والإنهاء، وتكون كل مرحلة منها معقدة؛ فعلى سبيل المثال، يتطلب ابتداء التخليق البروتيني، بالإضافة إلى الريباسات اللازمة التي تتألف هي بنفسها من عدة أنماط من الرنا (RNA) وعشرات البروتينات، أيضاً الرنا المرسال النوعي وأشكال الرنا النقال الموافقة للأحماض الأمينية العشرين جميعاً، و 10 عوامل ابتداء على الأقل (بعضها يكون بشكل معقدات متعددة الوحيدات) والأتب (ATP) والنوكليوتيد GTP. ورغم هذا التعقيد، يمكن وصفُ المفهوم العام للعملية المنهجية التي تؤدي إلى الابتداء، وكذلك العوامل المنفردة التي تساهم في تطويل التخليق البروتيني وإنهائه.

إن المعلومات الملخصة آنفاً تجعل من السهولة فهم كيفية نشوء البروتينات الطافرة. ويمكن أن تؤدي أشكال استبدال الأسس المنفردة إلى روامز تخصص

حمضاً أمينياً مختلفاً في موضع معلوم، أو إلى رامزة إيقاف تؤدي إلى بروتين مبتسر. ويؤدي غرز الأسس أو خَبْنها إلى تغيير إطار القراءة، وبذلك تقرأ الروامز بصورة مختلفة. وقد يؤدي هذا أيضاً إلى تسلسل شاذ من الأحماض الأمينية أو إلى بروتين مبتسر إذا ظهرت رامزة إنهاء.

تثبِّط ضروب مختلفة من المركبات، بما في ذلك عدة مضادات حيوية، التخليق البروتيني عبر التأثير في واحدة أو أكثر من الخطوات المشروحة سابقاً.

***References:**

Crick F et at: The genetic code. *Nature* 1961;192;1227.

Forget BG; Molecular genetics of human hemoglobin synthesis. *Ann Intern Med* 1979;91;605

Green R, Noller HF: Ribosomes and translation. *Annu Rev Biochem* 1997;66;679.

Kozak M: Structural features in eukaryotic mRNAs that modulate the initiation of translation.*J Biol Chem* 1991;266;1986.

Lawrence JC, Abraham RT: PHAS/4E-BPs as regulators of mRNA translation and cell proliferation. *Trends Biochem Sci* 1997;22;345

Pain VM: Initiation of protein synthesis in eukaryotic cells. *Eur J Biochem* 1996;236;747.

Sach AB, Buratowski [S]: Common themes in translation and transcriptional regulation. *Trends Biochem Sci* 1997;22;189.

الفصل الحادي والأربعون

تنظيم التعبير الجيني

Regulation of Gene Expression

مقدمة:

تتلاءم الكائنات الحية مع المتغيرات البيئية المحيطة بها من خلال تغيير التعبير الجيني (Gene expression). وقد جرت دراسة عملية تغيير التعبير الجيني بالتفصيل في الجراثيم والفيروسات، وتتضمن عموماً تآثر بروتينات رابطة معينة مع مناطق متنوعة من الدنا (DNA) التي تقع مباشرة بجوار موقع ابتداء الانتساخ. ويمكن أن يكون لهذا الأمر تأثير إيجابي أو سلبي في عملية الانتساخ. وتستخدم خلايا حقيقيات النوى هذا النموذج الأساسي، ولكنها توظف آليات أخرى أيضاً لتنظيم الانتساخ. كما أنها توظف مجموعة من العمليات لتنظيم التعبير الجيني؛ وتتضمن هذه العمليات كلاً من الاستعزاز (Enhancement) أو الكظم (Repression) والتعبير النوعي للنسيج والتنظيم بواسطة الهرمونات والفلزات والمواد الكيميائية والتضخيم (Amplification) الجيني ومراتبة (Rearrangement) الجينات والتحويرات بعد الانتساخ.

الأهمية الطبية البيولوجية:

تستخدم العديد من الآليات التي تتحكم بالتعبير الجيني في الاستجابة للهرمونات والأدوية العلاجية. وقد يؤدي فهم هذه العمليات إلى تطوير عوامل

تستطيع تغيير الآليات الفيزيولوجية المرضية أو تكبح عمل الكائنات المُمْرِضة أو توقف نموها.

التعبير المنظم للجينات ضروري للتطور والتمايز والتلاؤم:

إن المعلومات الوراثية الموجودة داخل كل خلية جسدية من الكائن التوالاني (Metazoan organism) هي فعلياً متشابهة. وأما الاستثناءات فهي موجودة في تلك الخلايا، القليلة، التي حصل فيها تضخيم الجينات أو مراتبتها بهدف القيام بوظائف خلوية متخصصة. ويجب أن يكون التعبير عن المعلومات الوراثية منظّماً خلال تخلُّق الكائن الحي ومكوناته الخلوية وتمايزهما. ويضاف إلى ذلك أنه يجب أن يستجيب التعبير الجيني في الكائن الحي للإشارات الخارجية، وعند الضرورة فقط، وذلك لغرض تلاؤمه مع بيئته والمحافظة على طاقته وغَذيّاته. وبما أن الكائنات تتطور، فلقد ظهرت آليات تنظيم أكثر تطوراً لتزويد الكائن وخلاياه بالاستجابة الضرورية من أجل بقياه داخل بيئته المعقدة؛ فخلايا الثدييات تحتوي على معلومات وراثية أكثر بنحو 100 ضعف من تلك الموجودة في جرثومة الإشريكية القولونية (*E.coli*). وأغلب الظن أن معظم هذه المعلومات الوراثية الإضافية تشارك في تنظيم التعبير الجيني خلال تمايز الأنسجة والعمليات البيولوجية داخل الكائن عديد الخلايا، وكذلك لضمان أن هذا الكائن يستطيع أن يستجيب للتحديات البيئية المعقدة.

وهناك، ببساطة، نمطان فقط من التنظيم الجيني: التنظيم الإيجابي والتنظيم السلبي (الجدول 41-1)؛ فعندما يزداد التعبير عن المعلومات الجينية كمياً بوجود عامل تنظيمي معين يكون التنظيم إيجابياً، أما عندما يتناقص التعبير عن المعلومات الجينية بسبب وجود عامل تنظيمي محدد آخر، فيكون التنظيم سلبياً. ويقال عن العامل أو الجزيء الذي يتوسط التنظيم السلبي إنه منظم سلبي أو كاظم (Repressor)، في حين نطلق على العامل الذي يتوسط التنظيم الإيجابي اسم المنظم الإيجابي أو المنشط (Activator). وعلى أي حال فإن السلبية المضاعفة يكون لها أثر إيجابي1؛ لذا، فإن أي مستفعل (Effector) يقوم بتثبيط عمل العامل المنظم السلبي

سوف يظهر وكأن له تأثيراً تنظيمياً إيجابياً. وهناك العديد من الجمل المنظمة التي تظهر وكأنها محرضة، لكنها في الحقيقة مكظومة على الصعيد الجزيئي (انظر الفصل 11 لتفسير هذه المصطلحات).

	معدل التعبير الجيني	
	التنظيم السلبي	**التنظيم الإيجابي**
بوجود المنظم	ينقص	يزداد
بغياب المنظم	يزداد	ينقص

الجدول 41-1 : تأثيرات التنظيم الإيجابي والسلبي في التعبير الجيني

تظهر الجمل البيولوجية ثلاثة أنواع من الاستجابات المؤقتة للإشارة التنظيمية:

تم تمثيل هذه الاستجابات الثلاث بيانياً في (الشكل 41-1) بإيضاح معدل التعبير الجيني في الاستجابة المؤقتة لإشارة تحريضية.

تتصف الاستجابة من النمط A بتزايد في معدل التعبير الجيني يعتمد على الوجود المستمر للإشارة المحرضة؛ وإذا انتزعت الإشارة، يقل معدل التعبير ليصل إلى مستواه الأساسي، ولكنه يعود للزيادة مرة أخرى كاستجابة لعودة ظهور الإشارات المعينة. وهذا النوع من الاستجابة يشاهد كثيراً في طليعيَّات النوى استجابة للتغيرات المفاجئة في تركيز العناصر المغذية داخل الخلايا. كما يشاهد عادة في عدة كائنات راقية بعد أن تتعرض إلى محرضات (محدثات: Inducers) كالهرمونات الستيرويدية (الفصل 44).

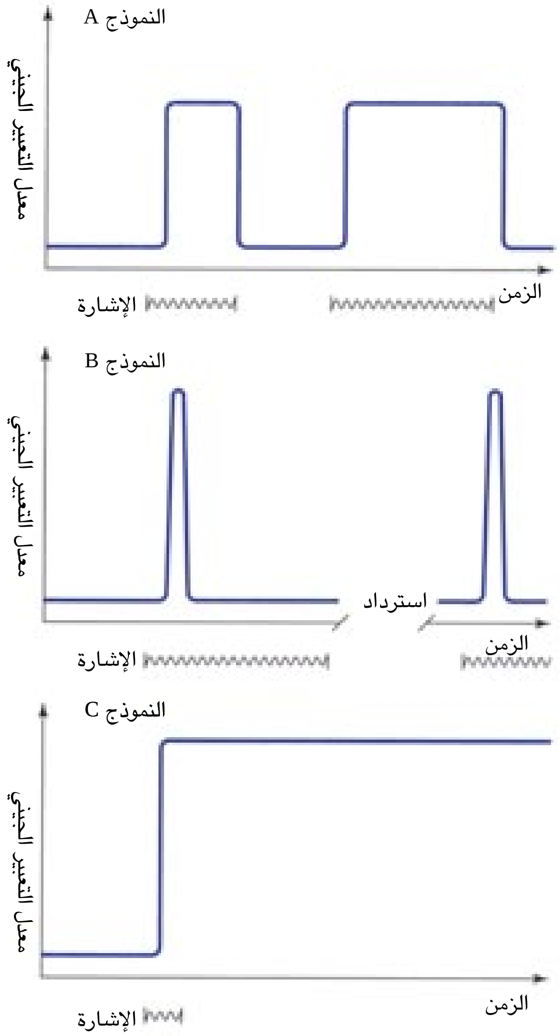
تبدي الاستجابة من النمط B ازدياد معدل التعبير الجيني بشكل مؤقت حتى باستمرار وجود الإشارة المنظمة. وبعد زوال الإشارة المنظمة وعودة الخلية إلى حالتها السوية، عندها يمكن مشاهدة استجابة مؤقتة ثانية ناجمة عن إشارة منظمة لاحقة. وتميز هذه الظاهرة (الاستجابة فإزالة التحسس [Desensitization] فالعودة

إلى الحالة السوية) عمل العديد من المواد الدوائية، ولكنها أيضاً إحدى خصائص عمليات سوية عديدة. ويحدث هذا النوع من الاستجابة عموماً خلال تطور الكائن الحي، عندما يكون مطلوباً الظهور المؤقت فقط لناتج جيني معين رغم بقاء الإشارة.

تبدي الاستجابة من النمط C للإشارة المنظمة زيادة في معدل التعبير الجيني تدوم إلى ما لا نهاية، حتى بعد إزالة الإشارة. وتعمل الإشارة هنا كمقداح (Trigger) لزيادة التعبير التي عندما تبدأ داخل الخلية يصعب وقفها حتى في الخلايا البنات، ومن ثم فإن هذا التعبير هو تغير غير قابل للعكس وقابل للتوريث. ويحدث هذا النمط من الاستجابة بشكل نموذجي خلال تطور الوظائف المتميزة النوعية للأنسجة أو الأعضاء.

تعطي خلايا طليعيات النوى نماذج لدراسة التعبير الجيني في خلايا الثدييات:

ساهم التحليل المعقد لتنظيم التعبير الجيني في خلايا طليعيَّات النوى في فهم مبدأ جريان المعلومات من الجين إلى الرنا المرسال (mRNA) إلى جزيء بروتيني معين. وقد ساعدت التحاليل الوراثية المتقدمة التي يمكن إجراؤها على طليعيَّات النوى وجمل حقيقيات النوى الدنيا في نجاح هذه الدراسات وتطويرها. وخلال السنوات الأخيرة، قادت المبادئ التي أثبتتها هذه الدراسات المبكرة والتقنيات البيولوجية الجزيئية المتنوعة إلى تقدم ملحوظ في تحليل تنظيم التعبير الجيني في خلايا حقيقيات النوى العليا، بما فيها الإنسان. وفي هذا الفصل، سيتم التركيز في بداية النقاش على جمل طليعيات النوى؛ ولن نقوم بوصف الدراسات الوراثية المذهلة، ولكننا سنناقش ما يسمى فيزيولوجيا التعبير الجيني. وعلى أي حال، لقد جرى استقاء جميع الاستنتاجات تقريباً حول هذه الفيزيولوجيا من الدراسات الوراثية.



الشكل 1-41 : مخططات ترسيمية لاستجابات معدل التعبير الجيني نحو إشارات تنظيمية نوعية كالهرمونات.

للتعبير الجيني في طليعيات النوى بعض الملامح الفريدة:

قبل البدء في شرح فيزيولوجية التعبير الجيني، يجب أن نعرف بعض المصطلحات الوراثية والتنظيمية المتخصصة في جمل طليعيَّات النوى.

غالباً ما توجد الجينات التي تساهم في سبيل أيضي في طليعيَّات النوى ضمن مصفوفة خطية تدعى المَشْغَل (Operon) (مثال: مَشْغَل اللاكتوز "*Lac* Operon")؛ ويمكن تنظيم هذا المَشْغَل بمعزاز (Promoter) مفرد أو منطقة منظمة واحدة. وأمَّا المقرون (Cistron) فهو أصغرَ وحدة في التعبير الجيني. وكما ذكر في (الفصل 11)، تتألف بعض الإنزيمات والجزيئات البروتينية الأخرى من وحيدتين غير متماثلتين أو أكثر؛ ومن ثم فقد أصبح معروفاً الآن بأن الفرضية: «جين لكل إنزيم» غير صحيحة بالضرورة.

إن المقرون هو الوحدة الوراثية التي تُرمِّز لبنية إحدى وحيدات جزيء بروتيني معين، وبعملها هذا تمثل أصغر وحدة في التعبير الجيني، وهكذا يمكن التعبير عن مفهوم «جين لكل إنزيم» بشكل أدق بالمفهوم «مقرون لكل وحيدة». ويدعى الرنا المرسال الذي يُرمِّز لأكثر من بروتين مترجم بشكل منفصل باسم الرنا المرسال عديد المقارين (Polycistronic)؛ فعلى سبيل المثال، يترجم الرنا المرسال لَمشْغَل اللاكتوز عديد المَقارين إلى ثلاثة بروتينات منفصلة (انظر لاحقاً). وتشيع المشاغل وجزيئات الرنا المرسال عديد المَقارين في الجراثيم، ولكن ليس في حقيقيات النوى.

إن الجين القابل للتحريض (Inducible Gene) هو جين يزداد تعبيره استجابة لمحرض (Inducer) أو منشِّط (Activator)، أي إشارة تنظيمية إيجابية معينة. وعلى العموم، تبدي الجينات القابلة للتحريض معدلات انتساخ أساسية (Basal) منخفضة نسبياً. وبالمقابل، غالباً ما تكون الجينات ذات المعدَّلات الأساسية المرتفعة للانتساخ عرضة للتنظيم السلبي بالكواظم (Repressors).

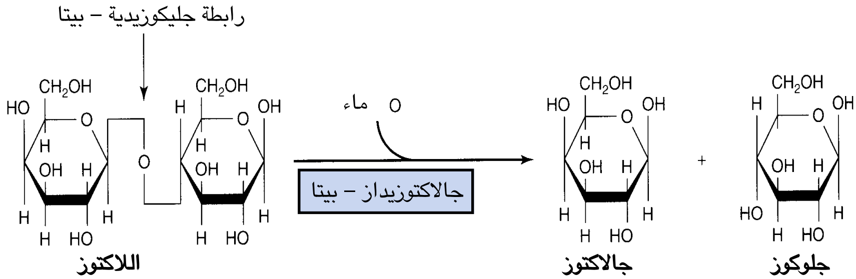
يكون التعبير عن بعض الجينات بنيوياً أو ثابتاً (Constitutive)، بمعنى أنه يجري بمعدل ثابت معقول ولا يخضع للتنظيم، وغالباً ما تدعى هذه الجينات باسم جينات الخدمة والتنظيف (Housekeeping genes). ونتيجة للطفرات، يصبح التعبير عن بعض نواتج الجين القابل للتحريض بنيوياً. وتدعى الطفرة التي ينتج عنها تعبير بنيوي عن جين كان في السابق خاضعاً للتنظيم باسم الطفرة البنيوية.

قادت الدراسات على أيض اللاكتوز في الإشريكية القولونية *(E-coli)* إلى فرضية المَشْغَل (Operon):

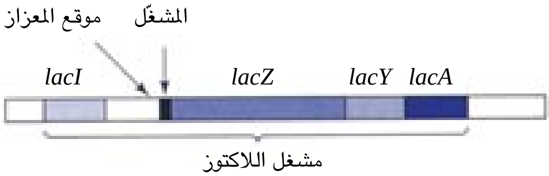
لقد وصف جاكوب ومونود في عام 1961 نموذج المَشْغَل (Operon Model) في إحدى الصحف المدرسية. وقامت فرضيتهما هذه إلى حد كبير على مشاهداتهما حول تنظيم أيض اللاكتوز في الجرثومة المعوية «الإشريكية القولونية *(E-coli)*.» وأصبحت الآليات الجزيئية المسؤولة عن تنظيم الجينات المشاركة في أيض اللاكتوز الآن من بين الآليات الأكثر فهماً في أي كائن حي.

يحلمه إنزيم الجالاكتوزيداز ـ بيتا اللاكتوز إلى جالاكتوز وجلوكوز (الشكل 41-2). ويتجمع الجين البنيوي لإنزيم الجالاكتوزيداز هذا مع جينات تكون نواتجها مسؤولة عن إدخال الجالاكتوز إلى داخل الخلية (*lac*Y) وعن بناء ناقلة أسيتيل الجالاكتوزيد الكبريتي (*lac*A). وتترافق الجينات البنيوية (Structural) لهذه الإنزيمات الثلاثة فيزيائياً مع مِعزاز اللاكتوز (Lac Promoter) ومُشَغِّل اللاكتوز (Operator) (منطقة منظمة) لتشكيل ما يدعى مَشْغَل اللاكتوز (*Lac* Operon) كما هو موضَّح في (الشكل 41-3). وتسمح هذه المُراتبة للجينات البنيوية والجينات المنظمة لها بالتعبير المتناسق للإنزيمات الثلاثة المعنيَّة بأيض اللاكتوز. ويجري انتساخ كل جين من هذه الجينات المرتبطة إلى جزيء رنا مرسال (mRNA) واحد كبير يحتوي على عدة روامز مستقلة لابتداء الترجمة (AUG) وإنهائها (UAA) لكل مقرون (Cistron). وهكذا، يترجم كل بروتين على حدة، ولا تنجم عن معالجة جزيء رنا مرسال طليعي كبير. وهذا النمطُ من الرنا المرسال (mRNA) يدعى بالرنا المرسال عديد المَقارين. ويغلب هذا الأخير في طليعيَّات النوى.

من المألوف الآن أن ندرس الجين الذي يتضمن متواليات تنظيمية بالإضافة إلى المنطقة التي ترمِّز المنتسخ الأولي. ورغم أن هناك عدة استثناءات تاريخية، فإننا نرمز لاسم الجين عموماً بخط مائل، أما اسم البروتين الناتج فنختصره بأحرف رومانية يكون أولها كبيراً (Capital)، فعلى سبيل المثال، يُرَمِّز الجين ***lacI*** الكاظم البروتيني LacI.



الشكل 2-41 : حلمهة اللاكتوز إلى جالاكتوز بإنزيم الجالاكتوزيداز ـ بيتا.



الشكل 3-41 : توضع الجينات البنيوية والتنظيمية في مَشْغَل اللاكتوز. يُرمِّز *lacZ* إنزيم الجالاكتوزيداز ـ بيتا، ويرمِّز *lacY* البيرمياز، ويرمِّز *lacA* ناقلة أسيتيل الجالاكتوزيد الكبريتي، ويرمِّز *lacI* البروتين الكاظم لمَشْغَل اللاكتوز.

عندما توجد الإشريكية القولونية *(E-coli)* مع اللاكتوز أو مضاهئ له، يتضاعف التعبير عن نشاط إنزيمات الجالاكتوزيداز ـ بيتا وبيرمياز الجالاكتوزيد وناقلة أسيتيل الجالاكتوزيد الكبريتي ما بين 10 إلى 100 ضعف. يمثّل هذا نمط الاستجابة A كما هو موضح في (الشكل 41-1). وعند نزع الإشارة، أي المحرض، فإن معدل تصنيع هذه الإنزيمات الثلاثة ينخفض. وبما أنه لا يوجد هناك تقويض مهم لهذه الإنزيمات داخل الخلايا الجرثومية، فإنه سوف يبقى مستوى الجالاكتوزيداز ـ بيتا وكذلك مستويات الإنزيمين الآخرين ثابتاً لا يتغير، إلا إذا جرى تخفيفه خلال الانقسام الخلوي.

عندما تتعرض الإشريكية القولونية لكل من اللاكتوز والجلوكوز (كمصادر للكربون)، فإنها ستقوم بأيض الجلوكوز أولاً، ثم تتوقف مرحلياً عن النمو حتى يجري تحريض جينات مَشْغَل اللاكتوز (*Lac* Operon) لتملك القدرة على أيض اللاكتوز. وبالرغم من وجود اللاكتوز منذ البداية، فإن الخلية لا تحرض تلك الإنزيمات الضرورية اللازمة لتقويض الاكتوز حتى يجري استنفاد كل الجلوكوز. وقد اعتقد سابقاً بأن هذه الظاهرة تعزى إلى كظم مَشْغَل اللاكتوز من قبل بعض مقايض (Catabolites) (مفردها مَقْيَضة، أي ناتج تقويض) الجلوكوز، ومن ثم سميت في حينه «الكظم بالمقايض» (Catabolite Repression). أما الآن فقد أصبح معروفاً بأن «الكظم بالمقايض» في حقيقة الأمر يجري بواسطة البروتين المنشِّط لجين المقايض (Catabolite gene activator protein “CAP”) بالمشاركة مع أحادي فسفات الأدينوزين الحلقي «الأمب الحلقي» (cAMP) (الشكل 20-5). ويسمى هذا البروتين أيضاً باسم البروتين التنظيمي المرتبط بالأمب الحلقي. ويكون التعبير عن العديد من جمل الإنزيمات القابلة للتحريض أو المشاغل في الإشريكية القولونية وسواها من طليعيَّات النوى، حساساً للكظم بالمقايض، كما سيشرح لاحقاً.

لقد فهمنا جيداً فيزيولوجيا تحريض مَشْغَل اللاكتوز على المستوى الجزيئي (الشكل 14-4)، فالتعبير السوي عن الجين lacI من مَشْغَل اللاكتوز بنيوي (يجري التعبير عنه بمعدل ثابت)، وينتج عن ذلك تكوين وحيدات كاظم اللاكتوز (*Lac* repressor) المتماثلة التي يتجمع منها أربع (الوزن الجزيئي 38000) فيتكون جزيء كاظم اللاكتوز. ويملك هذا الأخير ألفة عالية ($K_d = 10^{-13}$ mol/L) تجاه موقع

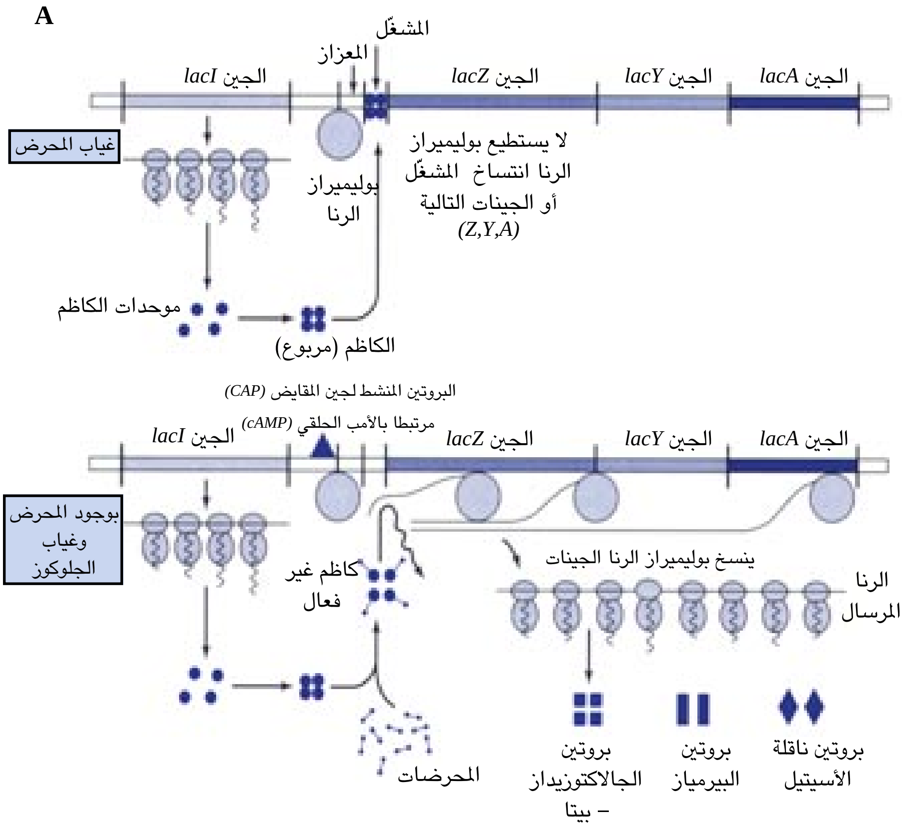
المُشَغِّل (Operator) وموقع المُشَغِّل هو منطقة من الدنا مضاعف الطاق بطول 27 زوج أساس وتحوي تناظراً منطقياً ثنائياً (موضحة على شكل خطوط متصلة حول المحور المنقط)، يقع في منطقة بطول 21 زوج أساس، كما يلي:

5` - AAT TGTGAGC G GATAACAATT

3` - TTA ACACTCG C CTATTGTTAA

إن الحجم الأصغري الفعال من المُشَغِّل اللازم لارتباط كاظم اللاكتوز به هو 17 زوج أساس (مُشار إليه بأحرف غامقة بالتسلسل السابق). ويظهر أنه، في أي وقت، يمكن لوحيدتين فقط من الكاظم أن ترتبطا بالمُشَغِّل؛ وأن أساساً واحداً على الأقل من كل زوج من الأسس في المنطقة المكوَّنة من 17 زوج أساس يساهم في عملية التعرف على كاظم اللاكتوز والارتباط معه. وغالباً ما يجري الارتباط في التَّلم الكبير دون أن يؤثر في الطبيعة الحلزونية المضاعفة المتزاوجة لدنا المُشَغِّل Operator) (DNA ويقع المُشَغِّل بين موضع المِعزاز (Promoter) ــ الذي يرتبط به إنزيم بوليميراز الرنا المعتمد على الدنا (DNA) لابتداء الانتساخ ــ وموقع ابتداء الانتساخ للجين *lac*Z (الجين البنيوي لإنزيم الجالاكتوزيداز ــ بيتا) (الشكل 41-3). وعندما يرتبط جزيء الكاظم إلى موقع المُشَغِّل فإنه يمنع انتساخ موقع المُشَغِّل وكذلك الجينات البنيوية التالية له (أي *lac*Z و*lac*Y و*lac*A) .لذا، فإن جزيء الكاظم هو منظم سلبي؛ فوجوده (أو عند غياب المحرض؛ انظر لاحقاً) لا يمنع التعبير عن الجينات *lac*Z و*lac*Y و *lac*A. ويوجد بشكل سوي نحو 40-20 جزيئاً كاظماً رباعي القسيمات وموقع مُشَغِّل واحد في كل خلية.

إن مضاهئ اللاكتوز ذا القدرة على تحريض مُشَغِّل اللاكتوز ــ بينما هو نفسه لا يقوم مقام الركيزة لإنزيم الجالاكتوزيداز ــ بيتا، هو مثال على المحرضات الفضولية أو الاعتباطية (Gratuitous inducers)؛ ومن الأمثلة على ذلك مادة إيزوبروبيل ثيوجالاكتوزيد (IPTG).



الشكل 41-4 : آلية كظم مَشْغَل اللاكتوز ونزع الكظم عنه.

A: عند غياب المحرض: تشكل نواتج الجين *lacI* (التي تخَلَّق بنيوياً) جزيء الكاظم الذي يرتبط بموضعه على المُشَغِّل فيحول دون ارتباط بوليميراز الرنا بموضع المعزاز ويمنع انتساخ الجينات البنيوية *lacZ* و*lacA* و *lacY*.

B: عند وجود المحرض: يشكل الجين *lacI* (المُعبَّر عنه بنيوياً) جزيئات كاظمة تتعطل بالمحرض، ولا يمكن أن ترتبط بموضع المُشَغِّل. وبوجود الأمب الحلقي (cAMP) وبروتينه الرابط CAP، يمكن لبوليميراز الرنا أن ينسخ الجينات البنيوية *lacZ* و*lacA* و *lacY*، ويمكن أن يُترجَم الجزيء المتشكل من الرنا المرسال عديد المَقارين إلى الجزيئات البروتينية الموافقة، الجالاكتوزيداز ـ بيتا والبيرمياز وناقلة الأسيتيل، مما يسمح بتقويض اللاكتوز.

إن إضافة اللاكتوز أو المحرض الفضولي إلى جراثيم تنمو في وسط يحوي مصدراً كربونياً قليل الاستخدام (كالسُّكْسينات) ينتج عنه التحريض السريع لإنزيمات مَشْغَل اللاكتوز. وباستطاعة كميات صغيرة من المحرض الفضولي أو من اللاكتوز دخول الخلية حتى في غياب إنزيم البرمياز (Premease).

تبدي جزيئات الكاظم المرتبطة بمواقعها في المُشَغِّل وتلك الموجودة بشكل حر في العصارة الخلوية، ألفة عالية تجاه المادة المحرضة. وكنتيجة لذلك، فإن ارتباط المادة المحرِّضة إلى جزيء الكاظم المرتبط مع موقع المُشَغِّل يؤدي إلى حدوث تغيير فراغي في «هيئة» الجزيء الكاظم يتسبب في انفصاله عن الدنا (DNA) لأن ألفته للمُشَغِّل تصبح حين ذلك أقل بنحو 10^3 مرة ($K_d = 10^{-9}$ مول/ل تقريباً) مما يبديه بغياب IPTG. وإذا كان بوليميراز الرنا المعتمد على الدنا مرتبطاً بالطاق المُرَمِّز في موقع المِعزاز، فإن عملية الانتساخ سوف تبدأ لتقوم البوليميراز بإنتاج رنا مرسال عديد المقارين، بحيث تكون فيه النهاية 5´متممة للطاق المرصاف للمُشَغِّل. وبهذا الأسلوب، فإن المحرض يحرر مَشغَل اللاكتوز من الكظم، ويسمح بإنتاج الجينات البنيوية لإنزيم الجالاكتوزيداز ـ بيتا وإنزيم بيرمياز الجالاكتوزيد وإنزيم ناقلة أسيتيل الجالاكتوزيد الكبريتي. ويُمكن البدء بترجمة الرنا المرسال عديد المَقارين حتى قبل انتهاء عملية الانتساخ. ويسمح إلغاء الكظم هذا للخلية بتخليق الإنزيمات اللازمة لتقويض اللاكتوز كمصدر للطاقة. وبالاعتماد على هذه الفيزيولوجية الموصوفة آنفاً، فإنّ التعبير المحرض بـ IPTG للبلازميدات المعداة الحاملة لمعزاز ومُشَغِّل اللاكتوز المرتبطين بالبنى المهندسة وراثياً، يستخدم بشكل شائع للتعبير عن البروتينات المأشوبة الثديية داخل الإشريكية القولونية.

وحتى يرتبط بوليميراز الرنا المرسال إلى موقع المِعزاز، لابد من وجود البروتين المنشط لجين المقيضة (CAP) المرتبط مع الأمب الحلقي (cAMP) وتراكم الخلية الجرثومية (وبآلية مستقلة) الأمب الحلقي (cAMP) فقط عندما تحرم من المصدر الكربوني. وفي حال وجود الجلوكوز ـ أو الجليسرول بتراكيز كافية للنمو ـ فإن الخلية الجرثومية سوف تنقصها الكمية الكافية من cAMP كي ترتبط مع CAP (لأن الجلوكوز يثبِّط محلقة الأدينيليل، وهي الإنزيم الذي يقلب الأتب (ATP) إلى الأمب الحلقي (cAMP) (انظر الفصل 44). وهكذا، وفي ظل وجود الجلوكوز أو

الجليسرول، تنقص كمية البروتين المنشِّط لجين المقيضة (CAP) المُشبَع بـ cAMP بحيث لا يستطيع بوليميراز الرنا المعتمدة على الدنا ابتداء عملية انتساخ مَشْغَل اللاكتوز. أما في حال وجود المركب المعقد cAMP-CAP الذي يرتبط مع الدنا (DNA) تماماً قبل موقع المِعزاز، فسوف تجري عمليةُ الانتساخ (الشكل 41-4). وتوحي الدراسات الحديثة بأن منطقة CAP تمس الوحيدة ألفا من بوليميراز الرنا، وتيسر ارتباط هذا الإنزيم بالمِعزاز. وهذا يعني أنه يمكن اعتبار cAMP-CAP منظماً إيجابياً لأن وجوده مطلوب للتعبير الجيني. وهكذا، فإن مَشْغَل اللاكتوز يتعرض إلى كل من التنظيمين الإيجابي والسلبي. وتحدث الفعالية الأعظمية لَمَشْغَل اللاكتوز عندما تكون مستويات الجلوكوز منخفضة (الأمب الحلقي مرتفع مع تنشيط CAP) وبوجود اللاكتوز (يمنع LacI من الارتباط بالمُشَغِّل).

عند حدوث طفرة في الجين *lacI* بحيث يغدو ناتجه (LacI) غير قادر على الارتباط مع دنا (DNA) المُشَغِّل، يظهر الكائن الحي تعبيراً بنيوياً لَمَشْغَل اللاكتوز. وعلى العكس من هذا، فإن الكائن، الذي يحتوي على طفرة في الجين lacI ينجم عنها ناتج (LacI) يمنع ارتباط المحرض بالكاظم، سيبقى مكظوماً حتى بوجود الجزيء المحرض، وذلك لأن المادة المحرضة لا تستطيع الارتباط مع المادة الكاظمة وهي على موقع المُشَغِّل من أجل نزع الكظم عن المُشَغِّل.

إن الجراثيم التي تؤوي طفرات في مواقع مُشَغِّل اللاكتوز فيها، بحيث أن تسلسل المُشَغِّل لن يقوم بالارتباط مع الجزيء الكاظم، ستبدي تعبيراً بنيوياً مستمراً لجينات مَشْغَل اللاكتوز.

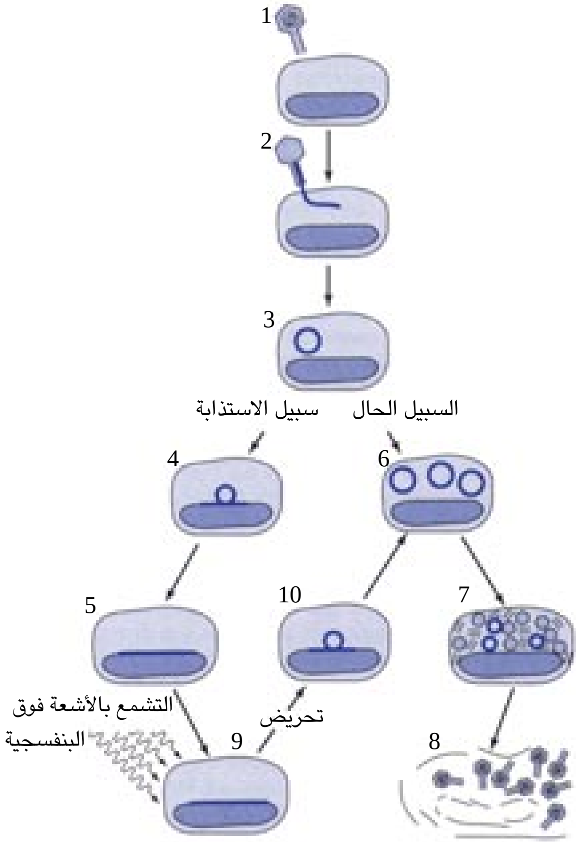
تقدم البدالة (Switch) الوراثية لعاثية الجراثيم لمْدا(λ) نموذجاً لتآثرات البروتينات مع الدنا في حقيقيات النوى:

تؤوي بعض الجراثيم ڤيروسات يمكن أن تبقى هاجعة (Dormant) داخل الكروموسوم الجرثومي أو أن تتنسخ داخل الخلية الجرثومية لتفضي في النهاية إلى انحلال (Lysis) المضيف أو الثوي (Host) الجرثومي وقتله. فبعض جراثيم الإشريكية القولونية تؤوي مثل هذا الڤيروس «المعتدل Temperate» الذي يدعى عاثية

الجراثيم لمدا (Bacteriophage λ). وعندما تقوم لمدا بإعداء الإشريكية القولونية، فإنها تحقن مجينها (Genome) الخطي مضاعف الطاق والمكون من 45000 زوج من الأساس داخل الخلية الجرثومية (الشكل 41-5). واعتماداً على الحالة التغذوية للخلية، يقوم دنا (DNA) لمدا إما بالاندماج داخل المجين المضيف (سبيل الاستذابة (Lysogenesis)) والبقاء هاجعاً حتى يجري تنشيطه (انظر لاحقاً)، أو أن يبدأ بالتنسخ والتضاعف فوراً حتى يخلق نحو 100 نسخة من الڤيروس الكامل المحاط بالبروتين، وهنا يتسبب بانحلال الخلية المضيفة (طريق الانحلال). وتستطيع جسيمات الڤيروس المتكونة حديثاً عندئذ إعداء مضيفات مستعدة أخر.

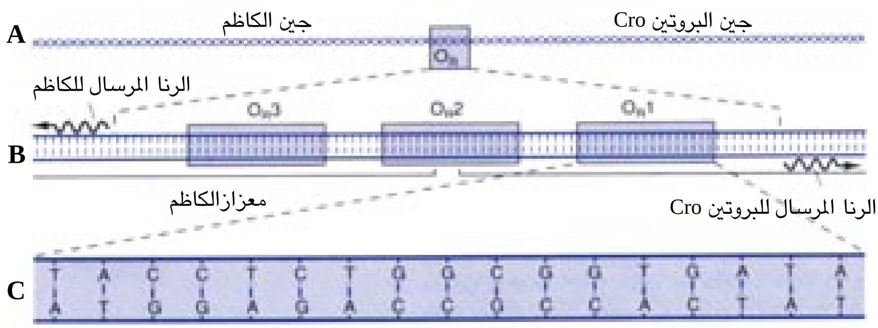
إن اندماج الڤيروس لمدا داخل مجين المضيف بحالته الهاجعة سوف تبقيه بحالته هذه حتى تنشيطه بتعريض مضيفه الجرثومي إلى مواد مخربة للدنا. ونتيجة الاستجابة لهذه العوامل المؤذية، تتحرض عاثية الجراثيم الهاجعة، وتبدأ بعملية التعبير عن جينات المَجين الڤيروسي وترجمة هذه الجينات إلى بروتينات لازمة لانفصاله عن كروموسومات المضيف وتضاعف الدنا (DNA) الخاص به وتركيب محفظته البروتينية وإنزيماته الحالة. ويعمل مثل هذا الحدث كاستجابة قادحة أو من النمط C (الشكل 41-1)، أي أنه بمجرد تحريض الڤيروس لمدا لا يمكن الرجوع إلى الوراء حتى تنحل الخلية وتتحرر العاثيات التي جرى تنسخها. وأصبح أساس هذا التحول (البدالة) من الحالة الهاجعة أو الحالة ما قبل العاثية (Prophage) إلى إعداء حال أمراً مفهوماً على المستويين الجزيئي والجيني، وسوف سيتم وصفه هنا بالتفصيل.

تتمركز عملية التحول أو التبديل في الڤيروس لمدا حول منطقة تتألف من 80 زوجاً من الأسس الموجودة داخل الدنا (DNA) مضاعف الطاق. تسمى هذه المنطقة «المُشَغِّل الحقيقي» Right operator; (OR) (الشكل 41-6). يطوق المُشَغِّل الحقيقي من جهة اليسار بالجين البنيوي للكاظم لمدا (cI) ومن جهة اليمين بالجين البنيوي لبروتين منظم آخر يسمى Cro.



الشكل 41-5 : يبدأ إعداء جرثومة الإشريكية القولونية بالعاثية لمدا عندما يرتبط الجسيم الڤيروسي نفسه بالخلية الجرثومية (1) ويحقن دناه (الخط المظلل) داخلها (2 ، 3). ويمكن أن يتخذ الإعداء أحد سبيلين بحسب الجينات الڤيروسية المُعَبَّر عنها؛ ففي سبيل الاستذابة، يندمج الدنا الڤيروسي مع الكروموسوم الجرثومي (4، 5) بحيث ينتسخ بشكل منفعل عند انقسام الخلية الجرثومية. ويدعى الڤيروس الهاجع (Dormant) باسم طليعة العاثية (Prophage)، وتدعى الخلية التي تؤوي هذا الڤيروس باسم المستذيب (Lysogen) وأما في سبيل الإعداء الحال، فإن الدنا الڤيروسي يتنسخ هو نفسه (6)، ويوجه تخليق البروتينات الڤيروسية (7)، ويتشكل نحو 100 جسيم ڤيروسي جديد. وتؤدي الڤيروسات المتكاثرة إلى حل الخلية (8)؛ ويمكن تحريض طليعة العاثية بعوامل مختلفة كالإشعاع فوق البنفسجي مثلاً (9). ويقوم العامل المحرض بإحداث بدالة (Switch) تسمح بعمل مجموعة مختلفة من الجينات. ويلتف الدنا الڤيروسي خارج الكروموسوم (10) ويتنسخ، ويدخل الڤيروس السبيل الحال.

عندما تكون لمدا في حالة ما قبل العاثية، أي اندماجها في المجين المضيف، يكون الجين الكاظم هو جين لمدا الوحيد الذي يتم التعبير عنه؛ أما عندما تدخل العاثية مرحلة النمو الحال فلا يجري التعبير عن الجين الكاظم، بل يتم التعبير عن الجين *Cro* والعديد من الجينات الأخرى الموجودة في لمدا؛ أي أنه عندما يكون الجين الكاظم في حالة عمل، فإن الجين *Cro* يكون في حالة توقف، وعندما يكون الجين *Cro* عاملاً، فإن الجين الكاظم يكون متوقفاً. ويُنظِّم، كما سنرى لاحقاً، كل من هذين الجينَين عملية التعبير عن الآخر، وبالتالي القرار بسلوك الڤيروس لمدا للسبيل الانحلالي أو السبيل الاستذابي. ويقدم اتخاذ القرار بانتساخ الجين الكاظم أو انتساخ جين *Cro* مثالاً عن البدالة (Switch) على المستوى الجزيئي.



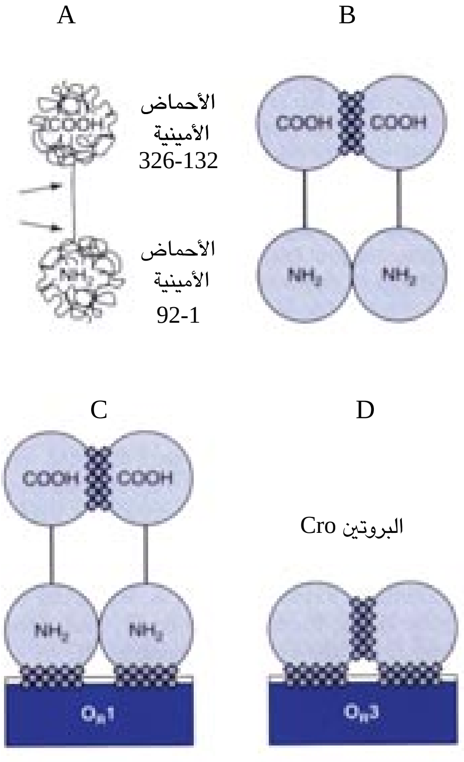
الشكل 41-6 : يظهر التفصيل المتدرج للمشغِّل الأيمن OR في هذه المجموعة من الرسوم. ويمثل المُشَغِّل منطقة من الدنا الڤيروسي بطول 80 زوج من الأسس تقريباً (A). ويقع إلى اليسار منه الجين الذي يرمِّز الكاظم لمدا (cI)، وإلى يمينه الجين *Cro* الذي يُرمِّز البروتين المنظِّم Cro. وعند تكبير منطقة المُشَغِّل (B)، تبدو أنها تشمل ثلاث مناطق فرعية (OR1 و OR2 وOR3) طول كل منها 17 زوجاً من الأسس. وهذه المناطق هي مواضع تعرف يمكن أن يرتبط بها كل من الكاظم وCro. وتتداخل مواضع التعرف مع مِعزازين (وهما تسلسلات من الأسس يرتبط بها إنزيم بوليميراز الرنا لنسخ الجين إلى رنا مرسال (الخطوط المتموجة) يترجم إلى بروتين . وبتكبير الموضع OR1 الرسم C يظهر تسلسل أسسه. لاحظ أنه في هذه المنطقة من الكروموسوم لمدا يعمل طاقا الدنا كمِرصاف للانتساخ (الفصل 39).

يمكن تقسيم منطقة المُشَغِّل إلى ثلاثة مواضع متميزة تتكون كل واحدة منها من 17 زوجاً من الأسس من متواليات الدنا (DNA) المتشابهة غير المتطابقة، ويرتبط بعضها مع بعض (الشكل 41-6 ب). وتستطيع كل من هذه المواقع الثلاثة (O_R1 و O_R2 وO_R3) الارتباط بالبروتينات *Cro* أو بالكاظم. ويتم هذا الارتباط بشكل رئيسي من خلال التماس ـ عبر التَّلم الكبير ـ بين الكاظم والدنا الحلزوني المزدوج. وتحتوي أيضاً منطقة الدنا (DNA) الواقعة بين الجينات *Cro* وجينات الكاظم على تسلسلين مُعزِّزين يعملان على توجيه ارتباط إنزيم بوليميراز الرنا بالاتجاه المحدد المطلوب حيث يبتدئ عملية انتساخ الجينات المجاورة. ويقوم المِعزاز الأول بتوجيه بوليميراز الرنا للقيام بالنسخ باتجاه اليمين (ينسخ الجين *Cro* والجينات التي تليه)؛ بينما يقوم المعزاز الآخر بتوجيه انتساخ الجين الكاظم وباتجاه اليسار (الشكل 41-6 B).

يوجد البروتين الكاظم (236 حمضاً أمينياً بوزن جزيئي قدره 27 ك. دالتون) على شكل جزيء مكون من حقلين اثنين. يرتبط الحقل الموجود قرب النهاية الأمينية مع دنا (DNA) المُشَغِّل، أما الحقل ناحية النهاية الكربوكسيلية فإنه يحرِّض ارتباط جزيء من البروتين الكاظم مع جزيء آخر لتشكيل بروتين مثنوي (Dimer) يمكنه الارتباط بالمُشَغِّل بقوة أكبر بكثير مما لو كان موحوداً (الشكل 41-7 A إلىC 41-7).

وبالنسبة لناتج الجين *Cro* فهو البروتين Cro المكون من 66 حمضاً أمينياً ووزنه الجزيي9 ك. دالتون وله حقل واحد ولكن شكله المَثنوي (Dimer) يرتبط أيضاً مع دنا المُشَغِّل بقوة أكبر من الموحود (الشكل 41-7 D). ومن الواضح أن الحقل الوحيد للبروتين Cro يعمل كوسيط لكل من ارتباط المُشَغِّل وعملية تكوين المثنوي.

الجرثومة المستذيبة هي الجرثومة التي تحتوي على ما مرحلة ما قبل العاثية لمدا. ويفضل فيها الكاظم المَثنوي الارتباط إلى O_R1، ولكن بفعله هذا، ومن خلال تآثر تعاوني، يحرض (بمقدار عشرة أضعاف) ارتباط كاظم مَثنوي آخر مع O_R2 (الشكل 41-8). ولقد وجد أن ألفة الكاظم تجاه الموقع O_R3 هي الأضعف فيما بين مناطق المُشَغِّل الثلاثة.

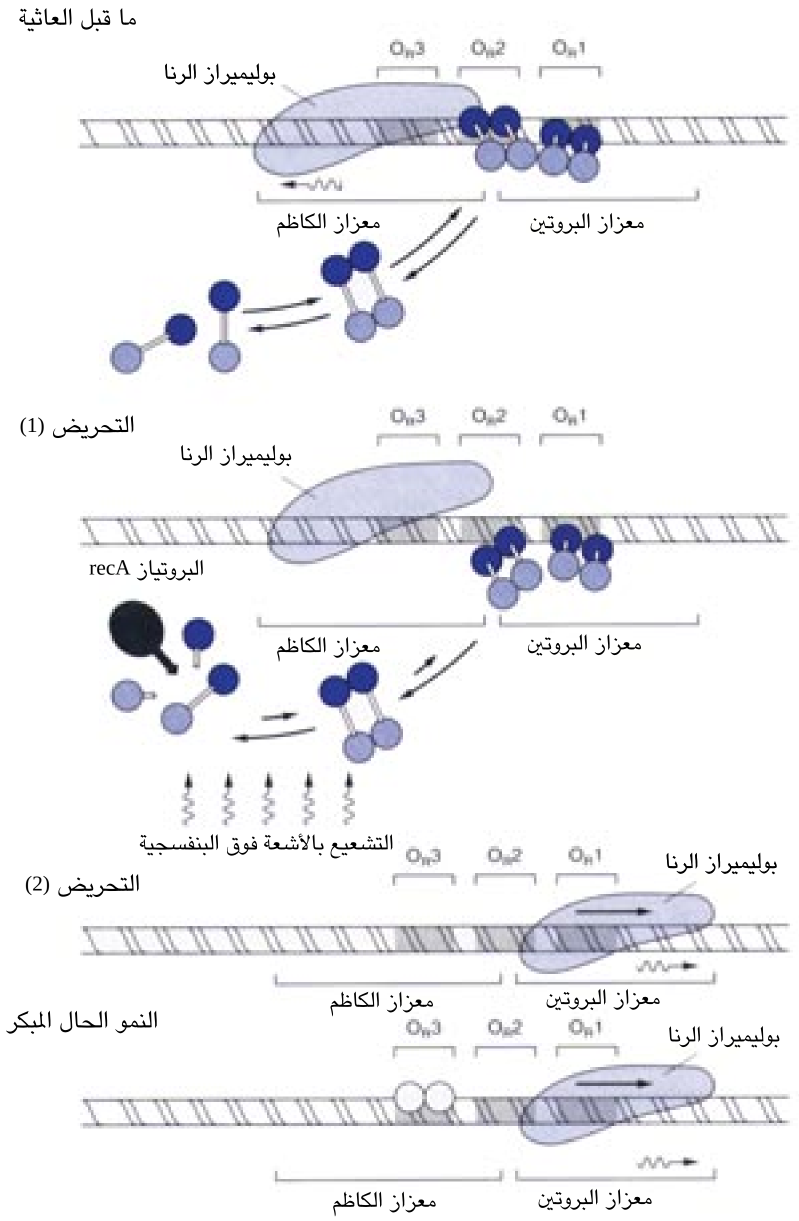


الشكل 41-7 : ترسيم للبنية الجزيئية لكل من cl (الكاظم لمدا، ويظهر في الرسوم A و B وC) والبروتين المنظِّم Cro. وبروتين الكاظم لمدا هو سلسلة عديدة الببتيد بطول 236 حمضاً أمينياً. وتتطوى السلسلة على شكل الدمبل (Dumbbell) وتحتوي على بنيتين فرعيتين: حقل النهاية المطرافية الأمينية (NH_2) وحقل النهاية المطرافية الكربوكسيلية (COOH) ترتبطان بمنطقة من السلسلة تكون عرضة للشطر بإنزيمات البروتياز (مثلث بسهمين في الرسم (A). وتميل جزيئات الكاظم المفردة (المواحيد) إلى الارتباط لتشكيل مثنويات (B)، ويمكن أن يفترق المَثنوي لتشكيل المواحيد من جديد. ويتماسك المَثنوي بشكل رئيسي عن طريق التماس بين حقول النهايات الكربوكسيلية (المظللة). وترتبط مَثنويات الكاظم بمواضع التعرف في منطقة المُشغِّل (ويمكن أن تفترق عنها)؛ وتكون ألفتها الأعظمية للموضع O_R1الرسم (C). وحقل النهاية الأمينية لجزيء الكاظم هو الذي يكون بتماس مع الدنا (التظليل). ويتصف البروتين Cro الرسم (D) بحقل مفرد مع مواضع تُعزِّز الارتباط لتشكيل المَثنوي ومواضع أخرى لارتباط المَثنويات مع المُشغِّل، لاسيما O_R3.

يكون لارتباط الكاظم مع O_R1 تأثيران مهمان: الأول، منع ارتباط إنزيم بوليميراز الرنا مع المِعزاز الأيمن فيمنع التعبير عن الجين *Cro*؛ والثاني، وكما ذكرنا آنفاً، فإن الكاظم المَثنوي المرتبط مع O_R1 يعزز ارتباط الكاظم المَثنوي إلى O_R2.

ويكون لارتباط الكاظم إلى O_R2 أثراً إضافياً مهماً، وهو استعزاز ارتباط إنزيم بوليميراز الرنا إلى المِعزاز الأيسر الذي يتداخل مع O_R2، ومن ثم يعزز انتساخ الجين الكاظم والتعبير عنه. ويبدو أن هذا الاستعزاز لعملية الانتساخ هو نتيجة للتآثرات البروتينية ـ البروتينية المباشرة بين بوليميراز الرنا المرتبط بالمُعَزِّز وبين الكاظم المرتبط بالموقع O_R2. وهكذا، فالبروتين الكاظم هو مزيج من منظم سلبي يمنع انتساخ الجين *Cro* ومنظم إيجابي يعزز انتساخ الجين الخاص به، أي الجين الكاظم. وهذا التأثير المزدوج للكاظم هو المسؤول عن الحالة المستقرة لعاثية الجراثيم الهاجعة، فلا يقوم الكاظم فقط بمنع تعبير الجينات الضرورية للانحلال، بل يعزز أيضاً التعبير عن نفسه لكي يثبت هذه الحالة من التمايز. وفي حال حدوث زيادة عالية جداً في تركيز البروتين الكاظم، يصبح الكاظم قادراً على الارتباط إلى O_R3 مما يؤدي إلى إنقاص انتساخ جين البروتين الكاظم من المعزاز الأيسر. ويبقى الوضع كذلك حتى ينقص تركيز الكاظم وينفصل عن O_R3.

عندما تقوم إشارة ذات تأثير مخرِّب للدنا (DNA) (كالأشعة فوق البنفسجية)، بمصادفة الجرثومة المضيفة ذات الطابع الاستذابي، فإنه تتولد عن ذلك شدف من الدنا (DNA) وحيد الطاق تقوم بتنشيط إنزيم بروتياز خاص مُرَمَّز من قبل جين الجرثومة، يطلق عليه اسم البروتياز recA (الشكل 41-8). ويقوم البروتياز recA المُنَشَّط بحلمهة الجزء من البروتين الكاظم الذي يربط الحقول الموجودة في النهايات الأمينية وتلك الموجودة في النهايات الكربوكسيلية لذلك الجزيء. ويسبب هذا الانشطار في حقول البروتين الكاظم تفارق المَثنوي الذي يفضي إلى انفصال جزيئات الكاظم عن O_R2 ثم عن O_R1. ويمكن التنبؤ بتأثيرات انتزاع الكاظم من O_R1 و O_R2 حيث يصبح بإمكان بوليميراز الرنا الوصول مباشرة للمعزاز الأيمن ليباشر انتساخ الجين Cro، ويضيع الاستعزاز الذي يبديه الكاظم المرتبط بالموقع O_R2 في الانتساخ باتجاه اليسار (الشكل 41-8).


ما قبل العاثية
بوليميراز الرنا
معزاز الكاظم
معزاز البروتين
التحريض (1)
بوليميراز الرنا
البروتياز recA
معزاز الكاظم
معزاز البروتين
التشعيع بالأشعة فوق البنفسجية
التحريض (2)
بوليميراز الرنا
معزاز الكاظم
معزاز البروتين
النمو الحال المبكر
بوليميراز الرنا
معزاز الكاظم
معزاز البروتين

الشكل 41-8 : يظهر تهايؤ البدالة عند المراحل الأربعة من دورة حياة لمدا. يسلك سبيل الاستذابة (الذي يبقى فيه الفيروس هاجعاً بشكل طليعة عاثية) عندما ترتبط مثنوية الكاظم O_R1 مما يجعل من المحتمل ملء O_R2 مباشرة بمَثنوية أخرى. وفي مرحلة ما قبل العاثية (في الأعلى)، تمنع مَثنويات الكاظم المرتبطة عند O_R1 و O_R2 ارتباط بوليميراز الرنا بالمِعزاز الأيمن، ومن ثم تمنع تخليق البروتين Cro (التنظيم السلبي). كما تُعزِّز الكواظم ارتباط البوليميراز بالمِعزاز الأيسر (التنظيم الإيجابي) مما يسمح بانتساخ جين الكاظم إلى جزيء الرنا المرسال (الخط المتموج) وتخليق المزيد من جزيئات الكاظم، محافظاً على حالة الاستذابة. وتتحرض طليعة العاثية عندما ينشِّط الإشعاع فوق البنفسجي إنزيم البروتياز recA الذي يشطر مواحيد الكاظم. ولذلك ينزاح توازن المواحيد والمَثنويات الحرة والمَثنويات المرتبطة. فتترك المَثنويات مواضع المُشَغِّل، ويغيب أثرها المُعَزِّز لارتباط البوليميراز بالمِعزاز اليساري، ومن ثَمَّ لا يعود هناك تخليق للكاظم. ومع تقدم التحريض، تصبح كافة مواضع المُشَغِّل شاغرة. وبذلك ترتبط البوليميراز بالمِعزاز الأيمن، ويتم تخليق البروتين Cro. وفي أثناء النمو الحال المبكر، ترتبط مثنوية Cro بالمنطقة O_R3، وهي الموضع الذي يتصف هذا المَثنوي بأكبر ألفة تجاهه. ويصبح البوليميراز الآن غير قادر على الارتباط بالمِعزاز الأيسر، لكن يبقى المِعزاز الأيمن متاحاً، فيرتبط به البوليميراز وينتسخ جين البروتين *Cro* وجينات الحل المبكرة الأخرى؛ ثم يبدأ النمو الحال.

ويستطيع البروتين Cro الارتباط أيضاً مع منطقة المُشَغِّل على شكل مثنويات، ولكن درجة التفضيل لديه هي عكس تلك الخاصة بالكاظم (الشكل 41-8). ويعني ذلك أن Cro يرتبط بقوة أكبر مع O_R3. ولكن لا يوجد تأثير تعاوني بين ارتباط البروتين Cro مع O_R3 وارتباطه مع O_R2. وإنما يؤدي وجود البروتين Cro بتراكيز عالية إلى الارتباط مع O_R2، وفي النهاية مع O_R1.

إن ارتباط البروتين Cro بالموقع O_R3 يؤدي فوراً إلى إيقاف عملية الانتساخ من المِعزاز الأيسر فيمنع أي تعبير لاحق للجين الكاظم. وبهذا تتأثر البدالة كلياً: يجري التعبير عن جين Cro الآن، أما جين الكظم فإنه يكون موقوفاً كلياً؛ وهذا الحدث غير قابل للعكس، ويبدأ التعبير عن جينات لمدا الأخرى كجزء من الدورة الانحلالية. وعندما يصبح تركيز كاظم Cro عالياً بدرجة كافية، فإنه سيشغل حتماً الموقع OR1، وبفعله هذا يقلل من التعبير عن جينه الخاص، وهذه العملية ضرورية في المراحل النهائية من دورة الانحلال.

لقد جرى تحديد التركيب البنيوي ثلاثي الأبعاد لكل من البروتين Cro وكاظم لمْدا بتصوير البلورات بالأشعة السينية (X-ray crystallography)، وقد اقتُرحت نماذج (واختبرت) عن كيفية ارتباط كل منهما وإحداث التأثيرات المذكورة آنفاً على المستوى الجزيئي والجيني. وكلاهما يرتبط إلى الدنا (DNA) بآلية حلِزّ ـ لفة ـ حلِزّ (انظر لاحقاً). وحتى الآن، فإن هذا النظام يقدم أفضل طريقة لفهم العمليات الجزيئية المشاركة في التنظيم الجيني.

لقد قاد التحليل المفصل لكاظم لمدا إلى المفهوم الهام المتمثل في أن لبروتينات تنظيم الانتساخ عدة حقول وظيفية؛ فعلى سبيل المثال، يرتبط الكاظم لمْدا بالدنا بألفة عالية، وتشكل مواحيده مثنويات يتآثر بعضها مع بعض، ويتآثر الكاظم مع بوليميراز الرنا. وتتضمن كل من الوجيهة البروتينية ـ الدناوية والوجيهات البروتينية ـ البروتينية الثلاثة حقولاً مفصولة ومتميزة من جزيء الكاظم. وكما سنلاحظ لاحقاً (انظر الشكل 41-17)، يعد هذا أمراً مميزاً تشترك فيه معظم، وربما جميع، الجزيئات التي تنظم الانتساخ.

يتضمن تنظيم الانتساخ في حقيقيات النوى خصائص محددة خاصة بها:

ينتظم معظم الدنا (DNA) في طليعيَّات النوى على شكل جينات، وبالإمكان انتساخ المراصيف دائماً. أما في خلايا الثدييات فالوضع مختلف تماماً حيث ينتظم جزء صغير نسبياً من إجمالي الدنا (DNA) على شكل جينات ومناطق تنظيمية مرافقة؛ ولا تزال وظيفة ما تبقى من الدنا (DNA) غير معروفة (وهذا أحد أسباب الاهتمام الشديد بسَلْسَلَة كامل المَجين البشري). كما يكون الدنا (DNA) (الفصل 38) في خلايا حقيقيات النوى متطوياً بشكل شديد ومُكَدساً في معقَّد من البروتين والدنا يدعى الكروماتين (Chromatin). وتُعَد الهيستونات جزءاً هاماً من هذا المعقد لأنها تشكل بنى تعرف باسم الجسيمات النووية (انظر الفصل 38).

تعد إعادة تشكيل الكروماتين أحد المظاهر الهامة للتعبير الجيني في حقيقيات النوى:

تعطي بنية الكروماتين موقعاً إضافياً للتحكم بالانتساخ. وكما ذكرنا في (الفصل 38)، فإن مناطق كبيرة من الكروماتين غير فعالة انتساخياً، بينما تكون المناطق الأخرى إما فعالة أو كامنة انتساخياً. وفيما عدا بعض الاستثناءات، فإن كل خلية تحتوي على المجموعة الكاملة نفسها من الجينات (تشكل الخلايا المولدة للأضداد استثناءات واضحة). ويعتمد تطور أعضاء وأنسجة وخلايا متخصصة ووظائفها في الكائن السليم على التعبير الجيني التفريقي (Differential expression).

يجري تحقيق بعض هذا التعبير التفريقي من خلال اختلاف مناطق الكروماتين القابلة للانتساخ بين الخلايا المنتمية إلى أنسجة عديدة. فعلى سبيل المثال، يوجد الدنا (DNA) الذي يحتوي على تجمع جينات الجلوبين بيتا في الكروماتين «الفعال» في الخلية الشبكية (Reticulocyte)، ولكنه يوجد في الكروماتين «غير الفعال» في الخلية العضلية. وما تزال العوامل التي تحدد الكروماتين الفعال غير معروفة. ويحول وجود الجسيمات النووية ومعقدات الهيستونات والدنا (انظر الفصل 38) بشكل خاص دون الارتباط السهل لعوامل الانتساخ بمناطق الدنا النوعية.

لذلك، تعد ديناميكيات تشكيل بنية الجسيم النووي وتخريبها جزءاً مهماً من التنظيم الجيني في حقيقيات النوى.

تعد أستلة الهيستون ونزع الأسيتيل منه محددة مهمة للنشاط الجيني. ولقد أعطى الكشف المدهش المتمثل في أن نشاط أسيتيلاز الهيستون يترافق مع TAFs (انظر الفصل 41) والمنشطات المساعدة المساهمة في تنظيم الهرمونات للانتساخ الجيني (انظر الفصل 44)، مفهوماً جديداً للتنظيم الجيني. ومن المعروف أن الأستلة تحدث على ثمالات الليسن في الذيول الأمينية النهائية لجزيئات الهيستون. وينقص هذا التحوير الشحنة الإيجابية لهذه الذيول، ويخفض ألفة الارتباط بين الهيستون والدنا المشحون سلبياً. ونتيجة لذلك، تؤدي أستلة الهيستون إلى تخريب بنية الجسيم النووي والسماح بوصول عوامل الانتساخ إلى عناصر الدنا التنظيمية بشكل أسهل. وكما هو مشروح سابقاً (انظر الفصل 41)، سيعزز هذا ارتباط آليات الانتساخ الأساسية بالمِعزاز. ومن الطبيعي أن نتوقع أن يكون لنزع الأستلة تأثيرات معاكسة. وتترافق بروتينات مختلفة ذات أنشطة نوعية مؤستلة (الأسيتيلاز) ونازعة للأسيتيل مع مختلف مكونات جهاز الانتساخ. وتخضع نوعية هذه العمليات للتحري، وكذلك الضروب المختلفة لآليات العمل. ويشرح (الفصل 44) بعض الأمثلة النوعية.

هناك أدلة على أن تغيرات واضحة في الكروماتين تنجم عن مَثْيلة ثمالات السيتيدين منزوع الأوكسجين (في التسلسل 5´- ^{m}CpG-3´) في الدنا (DNA)، وهذا قد يؤدي إلى منع عملية الانتساخ الفعال؛ فعلى سبيل المثال، تكون الجينات الريباسية غير المُمَثْيلة في كبد الفأر هي الوحيدة التي يمكن التعبير عنها، وهناك دليل على أنه لا يمكن انتساخ العديد من الفيروسات الحيوانية عندما تتم مَثْيلة الدنا (DNA) فيها. لقد لوحظ أن نزع الميثيل من ثمالات السيتيدين منزوعة الأكسجين في منطقة معينة من جين ناقلة أمين التيروزين ـ استجابة للهرمونات القشرية السكرية ـ تترافق بزيادة معدل انتساخ هذا الجين. ولكن، وعلى أي حال، لا نستطيع التعميم بأن الدنا (DNA) المُمَثيَل غير فعال انتساخياً، وأن كل الكروماتين غير الفعال يكون مُمَثْيَلاً، أو أن كل الدنا (DNA) الفعال غير ممثيل.

وأخيراً، يمكن أن يؤدي ارتباط عوامل انتساخ نوعية بعناصر دنا متشابهة إلى تمزيق بنية الجسيم النووي. ويكون للكثير من جينات حقيقيات النوى عدة عناصر دنا رابطة للبروتين. ويمكن أن يؤدي الارتباط المتسلسل لعوامل الانتساخ بهذه العناصر إلى تمزيق بنية الجسيم النووي أو منع إعادة تشكله.

يستطيع دنا (DNA) خلايا حقيقيات النوى الانتساخ عند وجوده في منطقة «فعالة» من الكروماتين. وكما هي الحال في خلايا طليعيَّات النوى، فإن المِعزاز يحدد أين يبتدئ بوليميراز الرنا (RNA) عمليةَ الانتساخ، ولكن لا يمكن أن نحدد أن هذا المعزاز يحتوي الصندوق ـ35 أو ـ10 وخاصة في خلايا الثدييات (انظر الفصل 39). أضف إلى ذلك أن العوامل ذات الفعل المفروق تأتي عموماً من كروموسومات أخرى (وبذلك فإنها تعمل بشكل مفروق)، بينما لا تزال هذه النقطة موضع نقاش في حالة خلايا طليعيَّات النوى المحتوية على كروموسوم واحد فقط. ويزداد الأمر تعقيداً أكثر عند اعتبار العوامل أو العناصر التي تعمل على تعزيز الانتساخ أو كظمه وتحدِّد التعبير الخاص بالنسيج وتعدل أفعال العديد من الجزيئات المستفعلة.

تعمل عناصر دنا (DNA) محددة على تعزيز الانتساخ في خلايا حقيقيات النوى أو كَظمه:

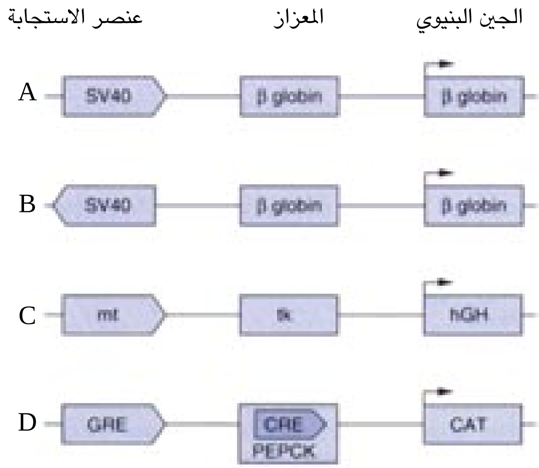
إضافة إلى التغيرات الواضحة في الكروماتين التي تؤثر في فعالية الانتساخ، هناك أدلة متزايدة على أن بعض عناصر الدنا (DNA) تُيَسِّر أو تُعَزِّز عمليةَ الابتداء في منطقة المِعزاز؛ فعلى سبيل المثال، يوجد في الڤيروس القردي 40 (Simian virus 40 "SV40") على بعد نحو 200 زوج من الأسس ـ أعلى تتابع المِعزاز في الجينات الأولى ـ منطقة مؤلفة من تسلسلين متشابهين مترادفين بطول 72 زوجاً من الأسس تستطيع زيادة التعبير الجيني بشكل كبير داخل الخلية الحية. ويمكن تقسيم كل من هذه العناصر ذات 72 زوجاً من الأسس إلى مجموعات من العناصر الأصغر، لذا فإن بعض العناصر المنشطة تكون ذات بنية معقدة للغاية. وتختلف العناصر المعزّزة (المعزازات) (Enhancer elements) عن المِعزاز بطريقتين مميزتين. فالعناصر تستطيع إظهار أثرها الإيجابي في عملية الانتساخ حتى لو كانت بعيدة آلاف

الأزواج من الأسس عن المِعزاز، وعملها مستقل عن توجهها، وبإمكانها العمل إلى الأعلى (5´) أو الأسفل (3´) من المِعزاز. وتُعَد العناصر المعززة مشوشة، إذ إنها تستطيع تحريض أي معزاز في الجوار، ومن الممكن أن تعمل على أكثر من معزاز واحد؛ فعلى سبيل المثال، يستطيع العنصر المحرض SV40 أن يظهر تأثيراً في انتساخ الجلوبين بيتا من خلال زيادة هذا الانتساخ 200 ضعف في خلايا تحتوي على كل من العنصر المعزز وجين الجلوبين بيتا على البلازميد نفسه (انظر لاحقاً، وانظر (الشكل 41-9). ولا يبدو بأن العناصر المعززة تقوم بإنتاج ناتج ليعمل بدوره على المِعزاز، وذلك لأنه فعال فقط عندما يوجد مع المِعزاز داخل جزيء الدنا (DNA) نفسه (أي مقرون معه). وتكون البروتينات الرابطة لهذه العناصر مسؤولة عن هذا التأثير. ويبدو أن المنشِّطاتِ المساعدة هذه تعمل على تيسير ارتباط آلات الانتساخ الأساسية بالمِعزاز. وغالباً ما تمنح العناصر المعززة والبروتينات الرابطة المرافقة الحساسية الزائدة تجاه إنزيم النوكلياز لتلك المناطق من الدنا الموجودة فيها (الفصل 38). وهناك ملخص عن خصائص العناصر المعززة في (الجدول 41-2).

وقد تم أيضاً تحديد العناصر ذات الفعل المقرون التي تقلل من التعبير عن جينات محددة أو تكظمه؛ وقد جرت دراسة القليل من هذه العناصر، ومن ثم فإنه من غير الممكن ذكر عموميات عن آلية عملها.

* تعمل حتى عندما تتوضع على مسافات بعيدة عن المعزاز.
* تعمل عندما تتوضع أعلى متوالية المعزاز أو أسفلها.
* تعمل في أي اتجاه.
* تعمل من خلال المعازيز المتغايرة.
* تعمل بربط بروتين أو أكثر.
* تعمل بتيسير ارتباط معقد الانتساخ الأساسي بالمِعزاز.

الجدول 41-2: ملخص خصائص العناصر المعززة (المعزازات أو المحرضات).



الشكل 41-9 : توضيح لفعل المحرضات والعناصر التنظيمية الأخرى ذات الفعل المقرون. يتكون هذا النموذج للجين الهجين (Chimeric) من جين مُخَبِّر (بنيوي) يرمِّز بروتيناً يمكن مقايسته بسهولة، ومِعزازاً يضمن ابتداء الانتساخ، وعناصر تنظيمية مفترضة. ويوضح المثالان A و B حقيقة أن المُعززات (مثل SV40) تعمل في أي اتجاه وعلى مِعزاز متغاير. كما يوضح المثال C أن العنصر التنظيمي للميتالوثيونين (mt) (الذي يقع تحت تأثير الكادميوم أو الزنك اللذين يحرضان انتساخ جين mt الداخلي، ومن ثم البروتين mt الرابط للمعدن) يعمل من خلال مِعزاز كيناز الثيميدين (tk) لتعزيز انتساخ جين هرمون النمو البشري (hGH). وقد أدخلت تراكيب جينية مُهَندَسة وراثياً إلى النوى الطليعية الذكرية في مضغة أحادية الخلية من الفأر، ووضعت المضغات في رحم أم بديلة للحصول على حيوانات نقيلة الجينات. وقد جرى توليد الذرية تحت هذه الشروط، وأدت إضافة أيونات الزنك إلى ماء شرب بعضِها إلى زيادة هرمون النمو الكبدي؛ وفي هذه الحالة، استجابت هذه الحيوانات النقيلة للمستويات المرتفعة لهرمون النمو بأن أصبحت ضعف حجم قريناتها. ويوضح المثال D أن عنصر الاستجابة للقشرانيات السكرية (GRE) يعمل من خلال معازيز مثلية (جين PEPCK) أو غيرية، وأن مِعزاز الجين PEPCK يحتوي أيضاً على عنصر يعمل كمحرض للمستوى القاعدي وكعنصر استجابة للأمب الحلقي (CRE) معاً.

قد ينجم التعبير النوعي للأنسجة عن عمل المحرضات أو الكواظم:

لقد تبين الآن أن العديد من الجينات تحتوي على عناصر مُعَزِّزة (محرضة) أو منشطة في مواقع عديدة نسبة لمواقع الترميز التابعة لها. وبالإضافة إلى قدرة العناصر المحرضة على استعزاز انتساخ الجين، فإن بعضاً من هذه العناصر يمتلك، وبوضوح، القدرة على القيام بذلك بشكل نوعي على مستوى نسيج معين دون الآخر. وهكذا، فإن العنصر المحرِّض المرتبط مع جينات الجلوبولينات المناعية بين المنطقة J والمنطقة C ينشِّط التعبير عن هذه الجينات بشكل نوعي في الخلايا اللمفاوية. وتمتلك العناصر المحرضة المرتبطة مع جينات إنزيمات البنكرياس القدرة على تنشيط جينات لا علاقة لها بها، ولكنها مرتبطة فيزيائياً مع بعضها بعضاً في خلايا البنكرياس لدى الفئران التي جرى إدخال تراكيب جينية معينة مهندسة وراثياً بواسطة عملية جراحية مجهرية على المرحلة المضغية ذات الخلية الواحدة. ولقد ثبتت فائدة هذا الحيوان المطفر وراثياً (Transgenic animal) في دراسة التعبير الجيني على مستوى نسيج معين؛ فعلى سبيل المثال، عند ربط دنا (DNA) يحتوي على محرض خاص بنسيج خلايا بيتا البنكرياسية (من جين الإنسولين) إلى مستضد التوارم الضخم T في ناقل (Vector) ما، نتجت أورام في الخلايا بيتا في الفئران النقيلة أو المطفَّرة وراثياً؛ ولم تظهر أورام في أي نسيج آخر. وهكذا، قد يكون التعبير الجيني النوعي لنسيج معين ناجماً عن عمل عناصر محرضة أو شبيهة بها.

تستخدم الجينات المخَبِّرة لتحديد العناصر المحرضة وعناصر التنظيم الأخرى:

إذا قمنا بربط مناطق من الدنا (DNA) يُشتَبَه باحتوائها على متواليات تنظيمية مع مختلف الجينات المُخَبِّرة (أسلوب الجينات المُخَبِّرة أو الهجينة (Chimeric)) (الشكلان 41-9 و 41-10)، فإنه من الممكن أن نحدِّد أية مناطق تقع في جوار الجينات البنيوية ولها تأثير في التعبير عنها. ولتحقيق ذلك، يتم ربط قطع من الدنا (DNA) يُشَكُّ باحتوائها على عناصر تنظيمية إلى جين مُخَبِّر مناسب، ثم يتم

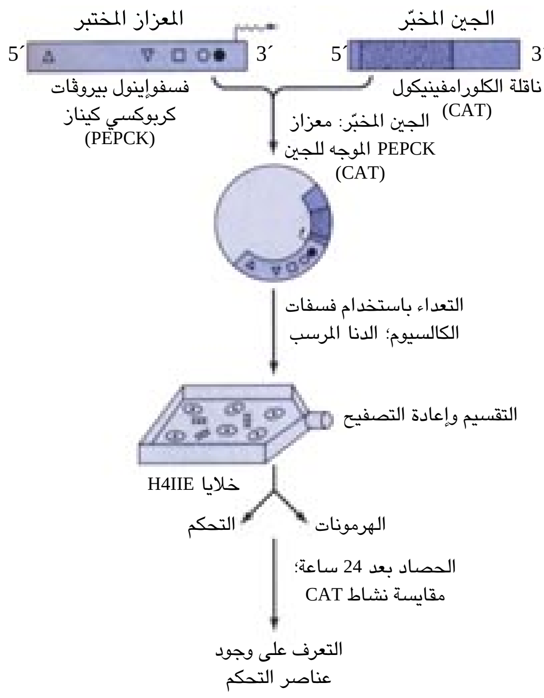
إدخالها إلى خلية مضيفة (الشكل 41-10). ويزيد التعبير الأساسي للجين المُخَبِّر إذا كان الدنا (DNA) يحتوي على عنصر محرض؛ كما يزيد أيضاً تعبير الجين المُخَبِّر عند إضافة هرمون أو فِلِزّ ثقيل إلى وسط الزرع إذا كان الدنا (DNA) يحتوي على عناصر مستجيبة للهرمون أو الفِلِزّ (الشكل 41-10). ومن الممكن كشف الموقع الدقيق للمُحَرِّض من خلال استخدام شدف من الدنا (DNA) متدرجة في الصغر أو إحداث الخَبْن أو الطفرات النقطية (الشكل 41-11).

لقد أدت هذه الاستراتيجية، باستخدام خلايا تعدائية (معداة بالنقل) (Transfected) مستنبتة وحيوانات مطفَّرة وراثياً (Transgenic)، إلى كشف عشرات من العناصر المحرضة والكاظمة والعناصر النوعية للأنسجة وعناصر الاستجابة للهرمونات والفِلِزّات والعقاقير... إلخ. وتعكس فعالية الجين في أية لحظة تآثرات هذه العناصر العديدة من الدنا(DNA) (التي تعمل بشكل مقرون) مع العوامل المتعلقة بها والتي تعمل بشكل مفروق. والتحدي القائم هو في كشف آلية حدوث ذلك.

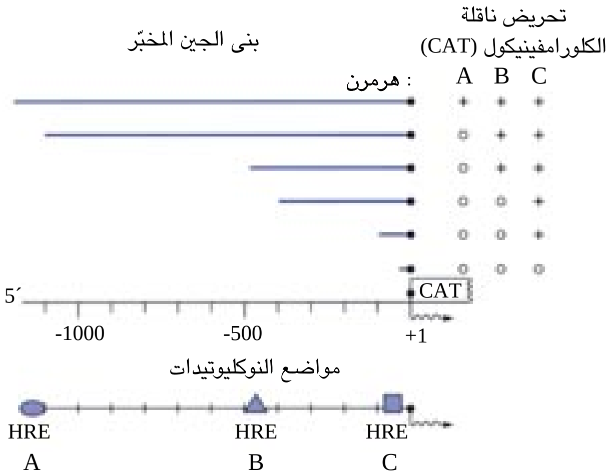
تعطي التوليفات المختلفة بين عناصر الدنا والبروتينات المرافقة تنوعاً في الاستجابة:

غالباً ما تنظم جينات طليعيات النوى بطريقة التشغيل والإيقاف (On-off manner) استجابة للظروف البيئية البسيطة. وينطبق ذلك على بعض جينات حقيقيات النوى، لكن العملية أعقد من ذلك بكثير في معظم الكائنات، لاسيما الثدييات. ويمكن أن تجتمع الإشارات الممثِّلة لعدد من المنبهات البيئية المعقدة على جين مفرد، وقد يكون لاستجابة الجين تجاه هذه الإشارات عدة خصائص فيزيولوجية، فقد تمتد الاستجابة داخل مجال معتبر؛ وهذا ما يتحقق بامتلاك استجابات إيجابية إضافية وتآزرية تقابلها عكسياً تأثيرات سلبية أو كاظمة. وفي بعض الحالات، يمكن أن تسود الاستجابة الإيجابية أو السلبية. ولابد أيضاً من آلية يمكن من خلالها للمُستَقْعل، كالهرمون، أن ينشط بعض الجينات في خلية ما ويكظم جينات أخرى ولا تتأثر به جينات ثالثة. وعند اقتران كافة هذه العمليات مع عوامل

العناصر النوعية للأنسجة، تظهر نسبة معقولة من المرونة. وتتطلب هذه المتغيرات الفيزيولوجية بوضوح ترتيباً أكثر تعقيداً بكثير من آلية بدالة التشغيل والإيقاف. وتعين مصفوفة عناصر الدنا في المِعزاز، مع العوامل المرافقة، كيفية استجابة جين معين. ويوضح (الشكل 41-12) بعض الأمثلة البسيطة.



الشكل 41-10 : استعمال الجينات المُخَبِّرة لتحديد وجود عناصر الدنا التنظيمية. يعتقد أن شُدفة الدنا المأخوذة من مِعزاز جين كربوكسي كيناز فسفوإينول البيروڤات PEPCK يحتوي على عنصر تنظيمي أو أكثر. تربط هذه الشدفة بناقل بلازميدي يحتوي على جين مُخَبِّر مناسب (هو الإنزيم الجرثومي ناقلة الكلورامفينيكول CAT) ولا يوجد CAT في خلايا الثدييات؛ ومن ثم يعني كشف نشاطه هذا في الخلاصة الخلوية بأن الخلية قد أعديت بالنقل بشكل ناجح بالبلازميد. كما تعني زيادة نشاط CAT أكثر من المستوى القاعدي، بعد إضافة هرمون قشراني سكري مثلاً، إن منطقة الدنا المغروزة تحتوي على عنصر استجابة وظيفي للهرمون القشراني السكري (GRE). ويمكن بناء قطع متقاصرة شيئاً فشيئاً من الدنا أو مناطق فيها خبن داخلي أو مناطق ذات طفرات نقطية، وغرزها لتحديد عنصر الاستجابة.

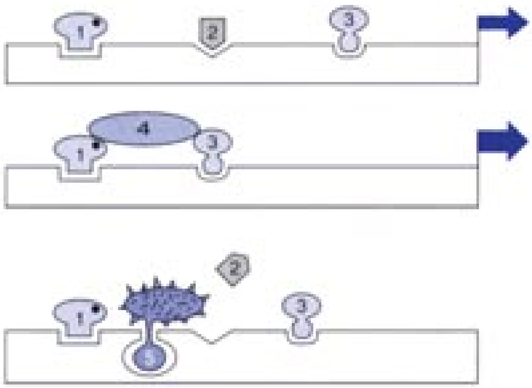


الشكل 41-11 : تحديد مواضع عناصر الاستجابة الهرمونية (A HREs و B و C) باستعمال أسلوب التّعداء والجين المُخَبِّر. يمكن إدخال جين مُخَبِّر (يُبنى كما هو موصوف في الشكل 41-10) إلى خلية متلقية. وبتحليل الوقت الذي تُفقَد فيه بعض الاستجابات الهرمونية، بالمقارنة مع الخَبْن ´5، يمكن تحديد مواضع عناصر الاستجابة النوعية للهرمون.

يمكن تحديد حقول الانتساخ بواسطة العوازل ومناطق التحكّم بالمواضع:

تطرح الأعداد الكبيرة للجينات في خلايا حقيقيات النوى، والمصفوفات المعقدة لعوامل تنظيم الانتساخ مشكلة التعضي أو الانتظام. لماذا يمكن انتساخ بعض الجينات في خلية ما، بينما تكون جينات أخرى غير قابلة للانتساخ؟ وإذا كان باستطاعة العوامل المحرضة تنظيم أكثر من جين، وكان عملها مستقلاً عن موقعها أو اتجاهها، فكيف تمنع من قدح عملية الانتساخ عشوائيا؟ قد يقدم ترتيب الكروماتين في وحدات وظيفية تقيد نماذج التعبير الجيني جزءاً من حل هذه المشكلات. ويحصل ذلك عن طريق تشكيل الكروماتين بنية مع المَطرس النووي أو أي

كينونات فيزيائية أخرى. ويتحقق ذلك بتنظيم بعض المناطق من خلال عناصر معقدة من الدنا (DNA) تسـمى مناطق التـحكم بالمواضـع (Locus Control Regions "LCRs"). وتنظم كل من هذه المناطق (مع البروتينات الرابطة المرافقة لها) تعبير مجموعة (عنقود) (Cluster) من الجينات؛ والمنطقة التي عرفناها جيداً هي تلك التي تقوم بتنظيم التعبير عن فصيلة جين الجلوبين على مساحة أكبر من الدنا (DNA). وأما الآلية الأخرى فتأتي بواسطة العوازل (Insulators) وتمنع عناصر الدنا (DNA) هذه (بالارتباط مع بروتين أو أكثر) العنصر المحرض من القيام بعمله على المعزاز الموجود على الجانب الآخر من العازل في حقل انتساخ آخر.



الشكل 41-12 : تعطي تواليف عناصر الدنا والبروتينات تنوعاً في استجابة الجين. ينشّط الجين A (يشير عرض السهم إلى الدرجة) بإشراك المنشطات 1 و2 و 3 (ربما مع مساعدات المنشطات، كما هو مبين في الشكل 39-10). وينشط الجين B، بشكل أكثر فعالية في هذه الحالة، بإشراك 1 و 3 و4. لاحظ أن 4 لا يمس الدنا مباشرة في هذا المثال. وقد تشكل المنشطات جسراً خطياً يربط الآلة الأساسية بالمعزاز، أو يمكن أن يتحقق ذلك بجعل الدنا بشكل عرى. وفي أي حالة من هذه الحالات، يكون الهدف هو توجيه آلات الانتساخ القاعدية إلى المِعزاز. ويعطل الجين C بإشراك 1 و 5 و 3؛ وفي هذه الحالة يظهر أن العاملَ 5 يمنع الارتباط الأساسي للعامل 2 مع الدنا، مثلما يحدث في المثال A. وإذا ساعد المنشط 1 الكاظم 5 على الارتباط، وإذا تطلب ارتباط المنشط 1 لجيناً (النقطة الغامقة)، فيمكن معرفة كيف يستطيع اللجين تنشيط جين واحد في الخلية (الجين A) وكظم آخر (الجين C).

هناك عدة بنى تتواسط ارتباط البروتينات المنظمة بالدنا (DNA):

تتطلب النوعية المُتَضَمَّنة في التحكم بالانتساخ إلى أن ترتبط البروتينات التنظيمية وبألفة عالية مع المنطقة الصحيحة من الدنا (DNA)، وهناك ثلاث بنى فريدة مسؤولة عن العديد من التآثرات النوعية بين البروتينات والدنا (DNA) هي البنية حلزّ ـ لفة ـ حلزّ (Helix-turn-helix) ونموذج إصبع الزنك (Zinc finger) وسحاب اللوسين (الزمَّام المنزلق (Leucine zipper)، ويضم (الجدول 41-3) أمثلة عن البروتينات التي تحتوي على هذه البنى.

نموذج الارتباط	الكائن الحي	البروتين المنظم
حلزّ ـ لفة ـ حلزّ	الإشريكية القولونية	كاظم اللاكتوز CAP
	العاثية	Cro، لمدا، التربيتوفان، كواظم العاثية 434
		بروتينات صندوقية متماثلة
	الثدييات	Pit-1 ، Oct1، Oct2
إصبع الزنك	الإشريكية القولونية	بروتين الجين 32
	الخميرة	Gal4
	ذبابة الفاكهة	اتفاقي، الأحدب
	القيطم	TFIIIA
	الثدييات	فصيلة المستقبلات الستيرويدية، Sn1
سَحَّاب اللوسين	الخميرة	GCN4
	الثدييات	C/EBP، fos ، Jun، Fra-l، البرتينات الرابطة لـ CRE، c-*myc*، n-*myc*، L-*myc*

الجدول 41-3 : أمثلة عن بروتينات تنظيم الانتساخ التي تحتوي على نماذج الارتباط المختلفة

إن مقارنة فعاليات ارتباط البروتينات التي تحتوي على هذه البنى يؤدي إلى عدة تعميمات مهمة:

(1) يجب أن يكون الارتباط ذا ألفة عالية مع موقع محدد ومنخفضة مع باقي الدنا (DNA).

(2) تقوم مناطق صغيرة فقط من البروتين بالتماس المباشر مع الدنا (DNA)؛ أما باقي البروتين فإنه ـ فضلاً عن تأمين حقول التنشيط المفروق ـ قد يشارك في تشكيل مثنويات من موحودات البروتين الرابط، أو يؤمن سطح تماس لتشكيل المثنويات المتغايرة، أو يمكن أن يعطي موضع ارتباط اللجائن.

(3) يتم الحفاظ على تآثرات البروتين والدنا (DNA) بوساطة الروابط الهيدروجينية وقوى فان در فالس.

(4) إن البنى الموجودة في هذه البروتينات فريدة ومميزة لها، ويشير وجودها في بروتين ما لم تُعرف وظيفته إلى أنه قد يرتبط مع الدنا (DNA).

(5) تشكل البروتينات التي تحتوي على حلِزّ ـ لفة ـ حلِزّ أو سحاب اللوسين مَثنويات متناظرة، ومن ثم فإن مواقع ارتباطها مع الدنا (DNA) ستكون سياقات متناظرة (Palindromes). وأما البروتينات التي تحتوي على نموذج إصبع الزنك فيتكرر موقع ارتباطها من 2 إلى 9 مرات. وتسمح هذه الخصائص بتآثرات تعاونية بين مواقع الارتباط، ويعزز درجة هذا الارتباط وألفته.

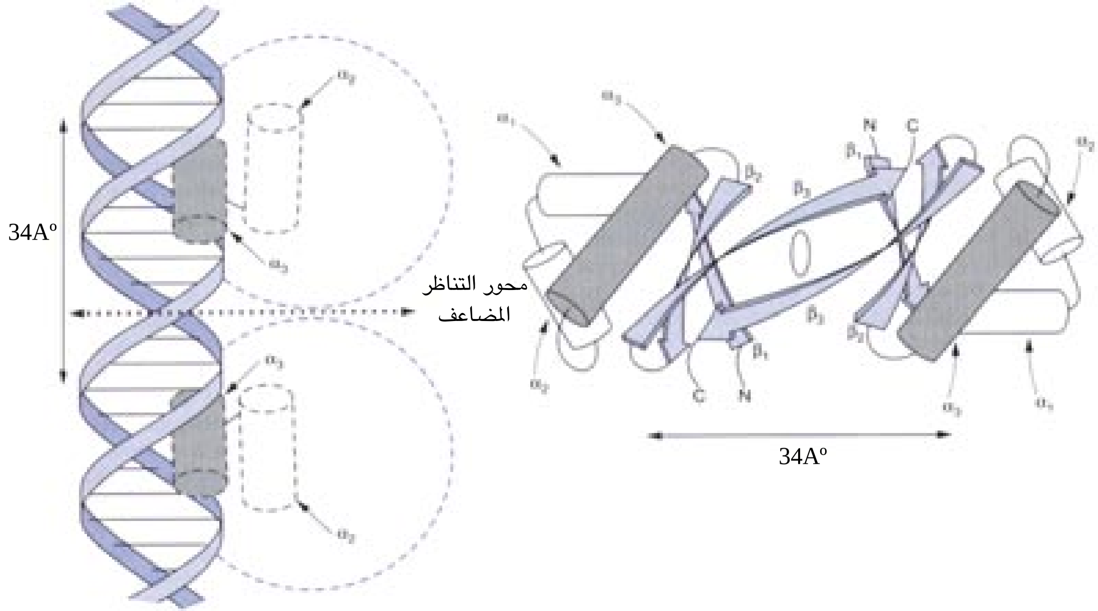
البنية حلِز ـ لفّة ـ حلِز:

وهو أول نموذج تم اكتشافه وأكثرها تعرضاً للدراسة المكثفة. ولقد كشفت دراسة البنية ثلاثية الأبعاد للمركب Cro بأن كل موحود يتألف من ثلاث صفائح بيتا عكسية التوازي وثلاثة حلِزّات ألفا (الشكل 41-13). وأما المَثنوية فتتشكّل بارتباط الصفيحتين α_3. وتشكل الحلزّات α_3 سطح التعرف على الدنا (DNA)، وأما باقي الجزيء فيظهر أنه يشارك في تثبيت هذه البنى. ويبلغ القطر الوسطي للحلِزّ ألفا 1.2 نم، وهذا يساوي تقريباً عرض التّلم الرئيسي في النمط B من الدنا

(DNA). ويتأثر حقل التعرف على الدنا (DNA) لكل موجود من Cro مع 5 أزواج من الأسس، أما مواقع ارتباط المثنوية فيبلغ طولها 3.4 نم، مما يسمح بتلاؤمها وحشرها في أنصاف اللفات المتعاقبة للتلم الرئيسي على السطح نفسه (الشكل 41-13). ويؤكد التحليل بالأشعة السينية أن الكاظم لُمدا و CAP (البروتين المستقبل للأمب الحلقي (cAMP) عند الإشريكية القولونية *(E.coli)*) وكاظم التريبتوفان وكاظم العاثية 434 كلها تحتوي على هذه البنية ثنائية القسيمات (حلزّ ـ لفة ـ حلز).

نموذج إصبع الزنك:

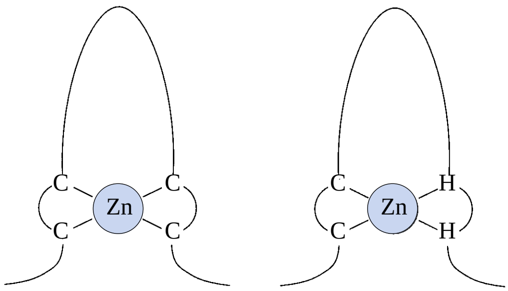
إن نموذج إصبع الزنك هو ثاني نموذج لربط دنا (DNA) تم اكتشافه. ولقد كان معروفاً أن فعالية البروتين TFIIIA (منظم إيجابي لانتساخ 5S RNA) تتطلب وجود الزنك. وقد أظهرت التحاليل البنيويَّة والفيزيائية البيولوجية أن كلَّ جزيء TFIIIA يحتوي على 9 أيونات زنك موجودة في ترتيب معقد متكرر وتعاوني يتشكل من ثمالتين متقاربتين من السيستيين يتبعهما بعد 12-13 حمضاً أمينياً الزوج هيستيدين ـ هيستيدين (الشكل 41-14). وفي بعض الحالات (نخص بالذكر حالة فصيلة مستقبلات الستيرويد وهرمون الغدة الدرقية) تستبدل الثنائية هيستيدين ـ هيستيدين بالزوج سيستيين ـ سيستيين. ويظهر أن البروتين المحتوي على أصابع الزنك يرقد على وجه واحد من حِلزّ الدنا (DNA) بحيث تتبادل أصابع متتابعة المواقع في لفة واحدة في التَّلم الرئيسي. وكما هي الحال في الحقل المسؤول عن التعرف في بروتين حلزّ ـ لفة ـ حلزّ، فإن كلَّ إصبع زنك في TFIIIA يتصل مع نحو 5 أزواج من الأسس من الدنا (DNA). وقد اتضحت أهمية هذا النموذج في آلية عمل الهرمونات الستيرويدية بواسطة ما يعرف باسم «تجربة الطبيعة»؛ فحدوث طفرة في حمض أميني واحد في أي من إصبعي الزنك في بروتين مستقبل الكالسيتريول $1,25(OH)_2$-D3 يؤدي إلى مقاومة عمل هذا الهرمون وظهور متلازمة الرخد السريرية (الفصل47).



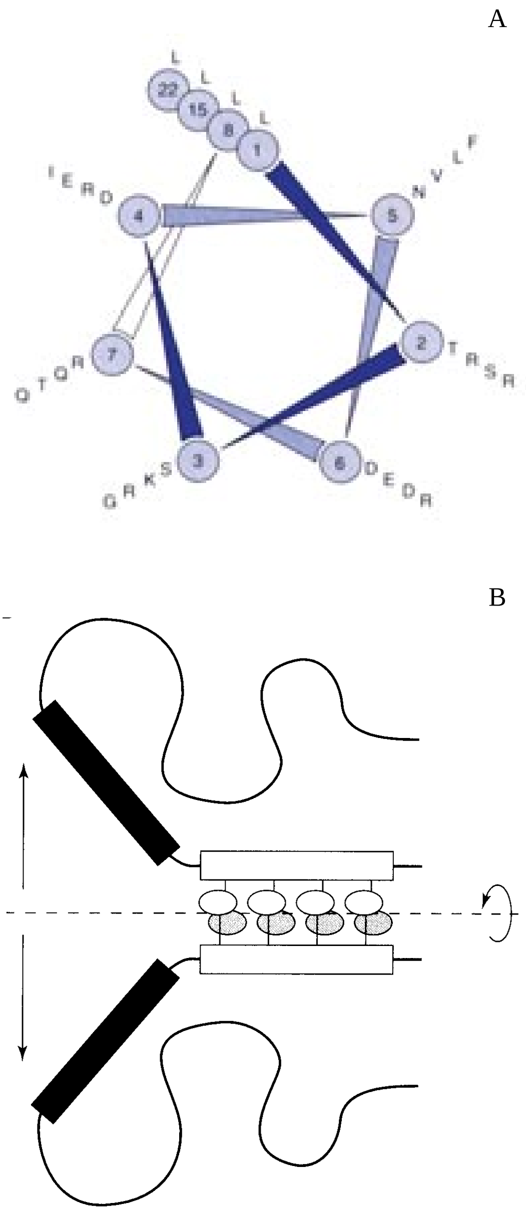
الشكل 13-41 : تمثيل ترسيمي للبنية ثلاثية الأبعاد للبروتين Cro وارتباطه بالدنا بواسطة نموذج الحلزّ ـ اللفة ـ الحلِزّ. يتألف موحود البروتين Cro من ثلاث صفائح بيتا (β) عكسية التوازي (من بيتا1 إلى بيتا3) وثلاثة حلِزّات ألفا (α) (ألفا1 – ألفا3). ويتشكل نموذجُ الحِلزّ ـ اللفة ـ الحِلزّ لأن الحلِزّين ألفا 3 وألفا2 يرتبطان عبر لفة من أربعة أحماض أمينية ليشكلا زاوية 90 درجة. ويكون الحِلزّ ألفا 3 للبروتين Cro هو سطح التعرف على الدنا (المظلّل). ويرتبط موحودان من خلال صفيحتين بيتا 3 عكسية التوازي لتشكيل مثنوية ذات محور تناظري مضاعف (في الأيمن). ويرتبط المَثنوي Cro بالدنا من خلال الحلِزّات ألفا 3، ويكون كل منها بتماس مع نحو 5 أزواج من الأسس على السطح نفسه من التَّلم الرئيسي. وتكون المسافة بين النقاط المتقارنة على حلزونين ألفا من الدنا هي 34 أنجستروم، وهي المسافة اللازمة للفة كاملة من الحلزون المضاعف.

نموذج سحاب اللوسين:

أظهر التحليل الدقيق لتسلسل الخمسة والثلاثين حمضاً أمينياً في منطقة النهاية الكربوكسيلية للبروتين الرابط للعنصر المحرض (C/EBP) وجود بنية جديدة. وكما هو موضح في (الشكل 41-15)، تشكل هذه المنطقة من البروتين حلزّاً من النوع ألفا تتكرر بداخله ثمالات اللوسين بشكل دوري عند كل موقع سابع. وهذا يحصل لثمانية لفات حلزّية وأربع تكرارات من اللوسين. واكتشفت أنماط بنيوية متشابهة في عدد من البروتينات الأخرى المُنَظِّمة للانتساخ في خلايا الثدييات والخمائر. ويعتقد بأن هذه البنية تسمح لموحودين اثنين متماثلين أو لمثنوي متغاير (مثل Jun Jun أو FosJun) بأن «يسحبا أو يزمَّا» على بعضهما بعضاً على شكل وشيعة ملفوفة، وأن تشكل معقداً مثنوياً متراصاً (الشكل 41-15). وقد يساعد التآثر البروتيني ـ البروتيني هذا على تعزيز ارتباط حقول ربط الدنا (DNA) المنفصلة مع أهدافها (الشكل 41-15).



الشكل 41-14 : أصابع الزنك هي سلسلة من الحقول التكرارية (من 2-9) يرتكز كل منها على تنسيق رباعي مع الزنك. وفي حالة TFIIIA يتأتى التنسيق بواسطة زوج من ثمالات السيستيين (C) المفصولة بواسطة 12-13 حمضاً أمينياً عن زوج آخر مماثل، وترتبط أصابع الزنك في التَّلم الرئيسي بأصابع مجاورة تجعلها بتماس مع 5 أزواج من الأسس على طول السطح نفسه من الحلزون.

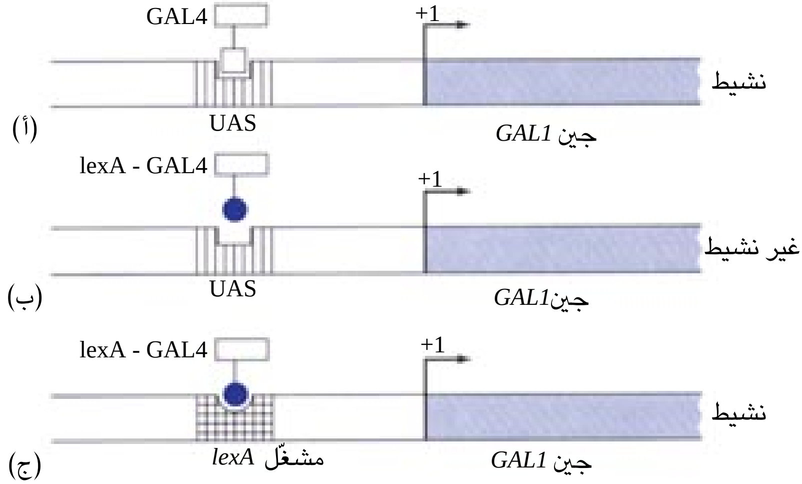


الشكل 41-15 : طراز سحاب اللوسين. يبدي الرسم A تحليلاً حلزونياً دورانياً لجزء النهاية الكربوكسيلية للبروتين الرابط للدنا C/EBP. وقد أظهر تتابع الأحماض الأمينية نهاية لنهاية باتجاه أسفل محور الحلزون ألفا الترسيمي. ويتألف الدوران أو الدولاب الحلزوني من سبعة قضبان توافق الأحماض الأمينية السبعة التي تشكل كل لفتين من الحلزون ألفا . لاحظ أن ثمالات اللوسين (L) تظهر في كل موضع سابع. ويكون للبروتينات الأخرى ذات سحابات اللوسين طراز دوراني حلزوني مماثل. ويمثل الرسم B طرازاً ترسيمياً للحقل الرابط للدنا في C/ABP. وترتبط سلسلتان عديدتا الببتيد متماثلتان للبروتين C/ABP في المثنوية المتشكلة بواسطة حقل سحاب اللوسين في كل عديد ببتيد (أشير إلى ذلك بواسطة المستطيلات والبيوض المتصلة). ويكون هذا الارتباط ضرورياً بشكل واضح للحفاظ على حقول ربط الدنا في كل عديد ببتيد (المستطيلات المظللة) بالهيئة المناسبة للارتباط بالدنا.

تكون حقول ارتباط الدنا (DNA) وحقول التنشيط المفروق لهذه البروتينات التنظيمية منفصلة وغير متآثرة:

قد ينتج عن ارتباط الدنا (DNA) تغير عام في البنية الفراغية (الهيئة)، بحيث يسمح للبروتين الرابط بتفعيل الانتساخ، أو أن حقولاً منفصلة ومستقلة تقوم بهاتين الوظيفتين، وتشير تجارب مسح الحقول بأن الحالة الأخيرة هي التي تحدث فعلاً.

يشارك ناتج جين *GAL1* في أيض الجالاكتوز؛ ولهذا الجين منظم إيجابي هو البروتين GAL4 الذي يرتبط مع المتوالية المُنَشِّطة للأعلى Upstream UAS) (activator sequence من خلال حقل عند نهايته الأمينية. وعند نزع النهاية الرابطة للدنا من GAL4 (مكونة من 73 حمضاً أمينياً) واستبدالها بحقل رابط للدنا من البروتين LexA (بروتين رابط للدنا في الإشريكيَّة القولونية)، كان الناتج جزيئاً من GAL4 لا يرتبط مع UAS من *GAL1*، وأيضاً بطبيعة الحال لا يُفعِّل الجين *GAL1* (الشكل 41-16). أما إذا جرى غرز مُشَغِّل *LexA* في منطقة المِعزاز للجين *GAL1*، فسيرتبط البروتين الهجين مع هذا المِعزاز (الموجود على مشغل LexA) وسيفعل انتساخ GAL1. وهذه التجربة، والتي جرت إعادتها عدة مرات (بما في ذلك إدماج البروتين LexA مع مستقبل القشرانيات السكرية التي تفعل جينات الاستجابة للقشرانيات السكرية بشكل مفروق) تقدم دليلاً قوياً على أن منطقة النهاية الكربوكسيلية في GAL4 تسبب تفعيل أو تنشيط الانتساخ. ويبدو أن حقول ارتباط الدنا (DNA) والفعل المفروق مستقلة عن بعضها ولا تتآثر فيما بينها. ويشتمل التراتب المساهم في تجميع معقدات تنشيط الانتساخ الجيني على بروتينات تربط الدنا وتنشطه بشكل مفروق؛ وعلى بروتينات أخرى تشكل معقدات بروتينية ـ بروتينية تربط البروتينات الرابطة للدنا مع البروتينات المنشطة بشكل مفروق، وبروتينات ثالثة تشكل معقدات بروتينية ـ بروتينية مع مكونات جهاز الانتساخ الأساسي. وبذلك، يمكن أن يكون لبروتين معين عدة سطوح أو حقول تخدم وظائف مختلفة (الشكل 41-17). وكما هو موصوف في (الفصل 39)، يكون الغرض الأولي من هذه التجمعات المعقدة هو إرساء أو تثبيت جهاز الانتساخ القاعدي بالمعزاز.



الشكل 41-16 : تبدي تجارب مقايضة الحقول انفصال ارتباط الدنا وتنشيط الانتساخ. يحتوي مِعزاز الجين *GAL1* على تتابع منشط في أعلاه (UAS) يربط البروتين المنظم GAL4 (الرسم «أ»). ويؤدي هذا التآثر إلى تنشيط انتساخ الجين *GAL1*. ويخفق البروتين الهجين (الذي يكون فيه حقل ارتباط الدنا في النهاية الأمينية للبروتين GAL4 منزوعاً ومستبدلاً بمنطقة ربط الدنا في بروتين الإشريكية القولونية (LexA في تنشيط انتساخ GAL1، لأن حقل LexA لا يستطيع الارتباط بالحقل الحاوي UAS (الرسم «ب»). ولا يزيد اندماج البروتين GAL4 مع LexA انتساخ GAL1عندما يقحم مشغل lexA (هدفه الطبيعي) في منطقة مِعزاز GAL1 (الرسم «ج»).

يختلف التنظيم الجيني في طليعيات النوى وحقيقيات النوى بعدة نواح مهمة:

بالإضافة إلى تنظيم الانتساخ، تستخدم خلايا حقيقيات النوى عدة آليات أخرى لتنظيم التعبير الجيني (الجدول 41-4). فيقوم الغشاء النووي في خلايا حقيقيات النوى بفصل انتساخ الجين عن الترجمة فيزيائياً لأن الريباسات موجودة فقط في الهيولى. وهناك خطوات عديدة أكثر، وخاصة تلك المتعلقة بمعالجة الرنا (RNA)، تشارك في تعبير جينات حقيقيات النوى غير موجودة في طليعيات النوى، وتوفر

هذه الخطوات الزائدة مواقع إضافية للتأثيرات المنظمة لا يمكن أن توجد في طليعيَّات النوى. وتتضمن خطوات معالجة الرنا (RNA) في حقيقيات النوى (الفصل 39) إضافة القلنسوة إلى النهايات ´5 من المُنتسخات الأولية، وإضافة ذيل من عديد الأدينيل للنهاية ´3 منها واستئصال مناطق الإنترونات لتخليق إكسونات مضفورة في جزيء الرنا المرسال (mRNA) الناضج. وتشير الدراسات على التعبير الجيني في حقيقيات النوى إلى وجود أدلة على أن التنظيم يجري على مستوى الانتساخ ومعالجة الرنا (RNA) في النواة وثباتية الرنا المرسال (mRNA)، يضاف إلى ذلك تضخيم الجينات ومراتبتها.

يعزى التطور الكبير في فهم تعبير الجينات في حقيقيات النوى الذي حصل في السنوات الأخيرة إلى تطور تقنية الدنا (DNA) المأشوب. ولكن، ولأن معظم الكائنات من حقيقيات النوى تحتوي على معلومات وراثية أكبر بكثير من طليعيَّات النوى، ولأن إمكانية التعامل مع تلك الجينات محدود بشكل أكبر في حقيقيات النوى، فإن المعلومات الجزيئية المتعلقة بتنظيم جينات حقيقيات النوى هي بطبيعة الحال أقل فهماً من تلك الأمثلة المشروحة آنفاً في بداية هذا الفصل. وسنقدم فيما يلي وصفاً مختصراً لبضعة أمثلة مختلفة عن تنظيم التعبير الجيني لدى حقيقيات النوى.

* التضخيم الجيني.
* مراتبة الجينات.
* معالجة الرنا (RNA).
* التضفير البديل للرنا المرسال (mRNA).
* نقل الرنا المرسال (mRNA) من النواة إلى الهيولى.
* تنظيم ثباتية الرنا المرسال (mRNA).

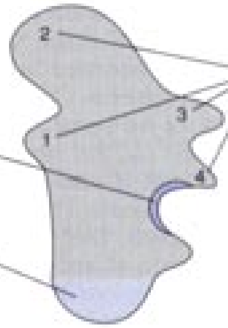
الجدول 41-4 : ينظم التعبير الجيني في خلايا حقيقيات النوى بالانتساخ وبآليات عديدة أخرى.

يمكن تضخيم جينات حقيقيات النوى أثناء تطورها أو استجابة للعقاقير:

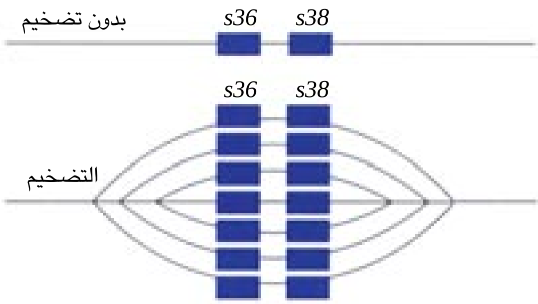
خلال التطور المبكر للتوالي (Metazoans)، تولد احتياج كبير مفاجئ لجزيئات معينة كالرنا الريباسي والرنا المرسال من أجل تخليق بروتينات خاصة تقوم ببناء بعض الأعضاء كقشرة البيض. وإحدى الطرق المؤدية إلى زيادة معدل تشكيل هذه الجزيئات هي زيادة عدد الجينات المتاحة للانتساخ لهذه الجزيئات النوعية. ونجد ضمن متواليات الدنا (DNA) المتكررة مئات من النسخ من جينات الرنا الريباسي وجينات الرنا النقال. وهذه الجينات وجدت أصلاً وبشكل مكرَّر في المادة المجينية للأعراس (الجاميتات: Gametes)، ثم انتقلت كنسخ بأعداد كبيرة من جيل إلى جيل. ويحدث في بعض الكائنات كذبابة الفاكهة أثناء تشكل البيوض تضخيم (Amplification) لعدد قليل من الجينات الموجودة أصلاً، مثل جينات البروتينات المشيمائية (قشر البيضة)؛ ومن ثم فإن هذه الجينات المضخمة، والتي يفترض أنها تولدت خلال اصطناع الدنا (DNA) بعملية إعادة تكرار خطوات الابتداء، ستؤمِّن مواقع عديدة من أجل انتساخ الجين (الشكل 38-16 والشكل 41-18).

وفي السنوات الأخيرة، أصبح ممكناً تحريض تضخيم مناطق جينية معينة في خلايا الثدييات المُستَنبتة. وفي بعض الحالات، يمكن الحصول على زيادة في عدد النسخ من جينات معينة، تصل إلى أكثر من عدة آلاف ضعف؛ وخلال فترة من الوقت بعد إعطاء جرعات متزايدة من عقاقير معينة. وفي حقيقة الأمر، لقد تبين عند المرضى الذين يتناولون عقار الميثوتركسات لمعالجة السرطان أن باستطاعة الخلايا السرطانية أن تطوِّر مقاومة لهذا العقار من خلال زيادة عدد جينات إنزيم مختزلة ثنائي هيدرو الفولات، وهذا الأخير هو هدف العقار المستخدم.

إن الأحداث الداخلة في تضخيم الجينات (كتلك التي تحصل تلقائياً داخل الخلية، أي بغياب عناصر خارجية المنشأ؛ وكذلك دورات الانتساخ الإضافية غير المبرمجة) يمكن «تجميدها» داخل المجين تحت ضغوط منتقاة مناسبة.



الشكل 41-17 : تحوي البروتينات المنظمة للانتساخ عدة حقول. ويحتوي عامل الانتساخ الافتراضي على حقل رابط للدنا (DBD) يكون منفصلاً عن حقل ارتباط اللجين (LBD) وعدة حقول تنشيط أخرى (1-4). وقد تفتقر بروتينات أخرى للحقل DBD أو LBD، ويمكن أن يكون لها أعداد متباينة من الحقول ترتبط بروتينات أخرى بما في ذلك الخاصة بمعقد الانتساخ الأساسي.



الشكل 41-18 : تمثيل ترسيمي لتضخيم جينات البروتينات المشيمائية s36 و s38.

يتضمن تشكيل جينات الجلوبولينات المناعية الفعالة مراتبة الدنا بطريقة انتقائية:

إن من أكثر الأسئلة أهمية وتعقيداً وإرباكاً ـ والتي طرحها علماء البيولوجيا في العقود الأخيرة ـ هي تلك التي تتعلق بالأسس الوراثية والجزيئية لتنوع الأضداد (الفصل 59). وإضافة إلى ذلك، فقد أظهر التقدم في علم المناعة أنه عند تمايز خلايا جملة المناعة الخلطية تنتج أضداداً ذات نوعية واحدة، ولكن ذات وظائف مستفعلة مختلفة. وفي غضون السنوات القليلة الماضية، ساهمت مختبرات عديدة إلى حد كبير في فهم الأسس الوراثية لتنوُّع الأضداد وتنظيم التعبير عن جينات الجلوبولينات المناعية خلال التطور والتمايز.

وكما أوضحنا في (الفصل 39)، فإن الشدف المُرَمِّزة المسؤولة عن توليد جزيئات بروتينية معينة هي في أكثر الأحيان غير متجاورة في مَجين الثدييات، وكان أول كشف عن عدم التجاور بين الشدف المُرَمِّزة في المجين هو ذلك الخاص بالشدف المتغيرة والثابتة للسلسلة الخفيفة للجلوبولين المناعي (الأضداد). وكما سيجري إيضاحه بمزيد من التفصيل في (الفصل 59)، فإن جزيئات الجلوبولين المناعي تتكون من نوعين من السلاسل الببتيدية، وهي السلاسل الخفيفة (L) والسلاسل الثقيلة (H) (الشكل 8-59). وتتكون كل سلسلة من السلاسل H و L مقسمة إلى منطقة متغيرة (V) في النهاية الأمينية ومنطقة ثابتة (C) في النهاية الكربوكسيلية. وتكون المناطق V مسؤولة عن التعرف على المستضدات (الجزيئات الأجنبية)، أما المناطق الثابتة C فمسؤولة عن الوظائف المُستفعلة التي تحدد كيفية قيام جزيء الضد بالتعامل مع المستضد.

هناك ثلاث فصائل من الجينات غير المرتبطة والمسؤولة عن بنية جزيء الجلوبولين المناعي. اثنتان مسؤولتان عن السلاسل الخفيفة (السلاسل لمدا λ والسلاسل كابا κ)، وفصيلة واحدة مسؤولة عن السلاسل الثقيلة.

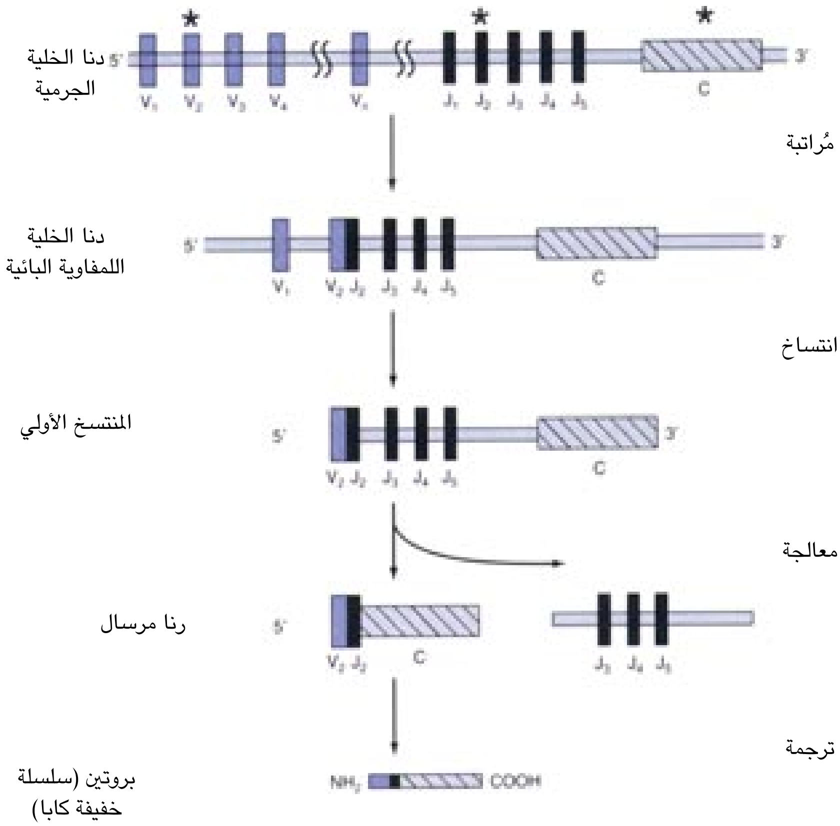
تُرمِّز كل سلسلة خفيفة بثلاث شدف متميزة هي: κ المتغيرة (V_L) والرابطة (J_L) والثابتة (C_L). وبالنسبة للسلاسل الخفيفية كابا (K) ولمدا (λ)، هناك نحو 300 شدفة متغيرة (V_L) لكل واحدة منها و 5 أو 6 شدف رابطة (J_L)، وتكون السلاسل

لمدا الخفيفة مشتقة من أقل من عشر مناطق ثابتة (C_L)، بينما تشتق السلاسل كابا الخفيفة من شدفة وحيدة ثابتة (C_L). وفي أثناء تمايز الخلية اللمفاوية البائية، يجري إحضار الشدفة المتغيرة (VL) من موقع بعيد على الكروموسوم نفسه إلى موقع أقرب إلى المنطقة المحتوية على الشدف الرابطة (J_L) والثابتة (C_L) في المجين. وتسمح مراتبة الدنا (DNA) هذه عندها بانتساخ الشدف V_L و J_L و C_L كسلف واحد من الرنا المرسال (mRNA)، ومن ثم معالجته لإنتاج السلسلة الخفيفة الخاصة بضد معين. وتستطيع الجملة المناعية عن طريق مراتبة الشدف المتنوعة من V_L وJ_L وC_L في المجين توليد مكتبة ذات تنوع ضخم (بالملايين) من جزيئات الجلوبولينات المناعية الخاصة بالمستضدات. ويطلق على مراتبة الدنا هذه اسم الارتباط V-J (V-J Joining) للسلسلة الخفيفة (الشكل 41-19).

يجري ترميز السلسلة الثقيلة بواسطة أربع شدف جينية هي: V_Hو D (المتنوعة) و J_H و C_H. وهناك، في البشر، نحو 1000 شدفة V_H و 12 أو أكثر من الشُّدف D وأربع شدف من J. ويجري توليد المنطقة المتغيِّرة V_H للسلسلة الثقيلة عند ربط شدفة V_H مع شدفة D مع شدفة J_H؛ ثم تنضم المنطقة الناتجة من الدنا (V_H-D-J_H) مع جين CH (9جينات هي C_μ, C_δ, $C_\gamma3$, $C_\gamma1$, $C_\alpha1$, $C_\gamma2$, $C_\gamma4$, C_ε, $C_\alpha2$) وتحدد جينات CH هذه الصف أو الصف الفرعي الذي ينتمي إليه الجلوبولين المناعي (IgM، IgG، IgA... إلخ) (الفصل 59). وإذا أخذنا بعين الاعتبار العدد الكبير للشدف V وD و J ، وحقيقة أن هناك 9 شدف ثابتة وليست واحدة فقط، فإن احتمالات تأشيب السلاسل الثقيلة أكبر بكثير منها في السلاسل الخفيفة.

تشكل المعالجة البديلة للرنا آلية تنظيم أخرى:

إضافة إلى تأثيرها في معدل فعالية المِعزاز، تستخدم خلايا حقيقيات النوى المعالجة البديلة للرنا (RNA) للتحكم بالتعبير الجيني. ويمكن أن ينتج هذا عند استبدال المِعزاز أو مواقع تضفير الإنترونات ـ الإكسونات أو مواقع إضافة الذيل عديد الأدينيليل. وينتج عن ذلك في بعض الأحيان عدم التجانس داخل الخلية، ولكن في الغالب، فإن المُنتَسَخ الأولي نفسه يعامل بطرق مختلفة في الأنسجة مختلفة. وفيما يلي بعض الأمثلة عن كل نوع من أنواع التنظيم هذه.



الشكل 41-19 : أحداث التأشيب المؤدية إلى تشكيل السلسلة الخفيفة كابا من ربط V2 مع J2. توجد 500 شدفة VL (متغيِّرة) و 5-6 شُدف JL (رابطة) وشدفة واحدة CL (ثابتة) في مصفوفة خطية من الصبغي؛ وتعبر هذه المكونات آلاف كيلوات أزواج الأسس. وعند تلقي إشارة التمايز، يخضع الدنا في الخلية البائية إلى المُراتبة، بحيث تُربط النهاية ´3 من V2 في هذه الحالة بالنهاية ´5 من J2. ويبتدئ الانتساخ من خلال مِعزاز عند النهاية ´5 من V2، ويتقدَّم خلال C. ولإنتاج الرنا المرسال V2J2 C، يستأصل التتابع من النهاية ´3 للمنطقة J2 إلى النهاية ´5 للمنطقة C، ثم تُضفر V2J2 مع C. وبعد ذلك يمكن ترجمةالرنا المرسال إلى سلسلة خفيفة كابا تحتوي على تتابع الأحماض الأمينية المُرَمِّز بالمنطقة V2J2 و C؛ ويمكن أن يؤدي الإجراء العام نفسه إلى سلاسل خفيفة كابا مكوَّنة من أية توليفة من تواليف الشدف V و J مع C.

يؤدي استخدام مقرات ابتداء الانتساخ البديلة إلى اختلاف الإكسون ´5 على جزيئات الرنا المرسال لإنزيم الأميلاز والسلسلة الخفيفة للمَيوزين عند الفأر، وإنزيم الجلوكوكيناز عند الجرذ، وكذلك إنزيم نازعة هيدروجين الكحول وبروتين الأكتين عند ذبابة الفاكهة. وأما مواقع إضافة عديد الأدينيليل البديلة في المنتَسخ الأولي لجين السلسلة الثقيلة للجلوبولين المناعي μ فسينتج عنها جزيئات رنا مرسال (mRNA) طولها إما 2700 أساس (μ_m) أو 2400 أساس (s) وسينتج عن هذا منطقة مطرافية كربوكسيلية مختلفة في البروتين المُرمَّز بحيث أن البروتين من نوع μ_m يبقى ملتصقاً بغشاء الخلية اللمفاوية البائية والجلوبولين المنعي من النوع μ_s يجري إفرازه. وبالنسبة للتضفير والمعالجة البديلين، فإنهما يؤديان إلى تشكيل سبعة جزيئات متميزة من الرنا المرسال (mRNA) للتروبومَيوزين ألفا داخل 7 أنسجة مختلفة. ولكنه من غير الواضح كيف تتخذ قرارات التضفير والمعالجة، وما إذا كانت هذه الخطوات تخضع للتنظيم.

يؤمن تنظيم ثباتية الرنا المرسال (mRNA) آلية أخرى للتحكم:

رغم أن معظم جزيئات الرنا المرسال في خلايا الثدييات مستقرة كثيراً (تقاس أعمارها النصفية بالساعات)، فإن بعضها يتقلب بسرعة كبيرة (الأعمار النصفية 10-30 دقيقة). وفي بعض الحالات، يكون استقرار أو ثبات الرنا المرسال عرضة للتنظيم. ويتأتى عن ذلك مقتضيات مهمة، لأن هناك عادة علاقة مباشرة بين كمية الرنا المرسال ومعدل ترجمته إلى جزيء بروتيني. وبذلك، فإن للتغيرات في ثباتيّة جزيئات الرنا المرسال تأثيرات أساسية في العمليات البيولوجية.

توجد جزيئات الرنا المرسال في الهيولى بشكل جزيئات بروتينية نووية ريبية (RNPs) (ريبونوكليو بروتينات). وتحمي بعض هذه البروتينات الرنا المرسال من الهضم بإنزيمات النوكلياز، في حين يعزِّز بعضها الآخر هجوم النوكلياز في ظل ظروف معينة. ويعتقد أن جزيئات الرنا المرسال تتثبت أو يزعزع استقرارها بتآثر البروتينات مع هذه البنى أو مع التسلسلات المختلفة. وقد تنظم بعض المُستَفْعلات، كالهرمونات، استقرار الرنا المرسال بزيادة أو إنقاص كمية هذه البروتينات.

يبـدو أن نهايات جزيئـات الرنا المرسـال تسـاهم في ثبـاتيتـهـا (الشكل 41-20)، فتمنع القلنسوة ´5 في الرنا المرسال لدى حقيقيات النوى المهاجمة بواسطة إنزيمات النوكليـاز الخـارجية ´5، ويثبِّط ذيـل البولي (A) فعل إنزيمات النوكيـاز الخـارجية ´3. ويُفتـرض في جزيئـات الرنا المرسـال التي تتمتَّع بهذه البنى أن قَطْعاً مفـرداً حـالاً بالنوكليـاز الداخلية يسمح لإنزيمات النوكليـاز الخـارجية بمهاجمـة الجزيء بكامله وهضمـه. ويعتقـد أن بنى (تسلسـلات) أخرى في المتـوالية غيـر المُرَمِّزة (5´ NCS) والمنطقة المُرَمِّزة والمتوالية غير المُرَمِّزة ´3 (3´ NCS) تعزِّز أو تمنع هذا الفعل الأولي للحل بالنوكليـاز الداخلية (الشكل 41-20)؛ وسنذكر بضعة أمثلة إيضاحية.

يؤدي خَـبْن 5´ NCS إلى تطويل العـمـر النصـفي للرنا المرســال لجين c-*myc* بمقدار 3-5 أضـعاف. كما يؤدي تقاصـر المنطقة المُرَمِّزة في رنا الهيستون المرسـال إلى تطاول عـمـره النصـفي. ويشـمل شكل التنظيم الذاتي لاسـتقـرار الرنا المرســال المنطقةَ المُرَمِّزة بشكل غير مباشـر حيث يرتبط التوبولين (Tubulin) الحر بأول أربعة أحمـاض أمينية من السلسلة الوليدة للتوبولين عند بزوغها من الريباسـة. ويبدو أن هذا ينشِّط إنزيم الرناز (RNAse) المرافق للريباسة لتقوم بهضم كامل الرنا المرسال للتوبولين.

تعـزز البنى عند النهـاية ´3، بما في ذلك ذيل عديد الأدينيـلات، أو تنقص ثبـاتيّة جزيئات معينة من الرنا المرسـال. ويترافق غياب ذيل عديد الأدينيلات بتدرك سـريع للرنا المرسـال، ويؤدي نزع ذيل عديد االأدينيـلات من بعض جزيئات الرنـا إلى عدم استقرارها. ويفتقر رنا الهيستون المرسـال إلى ذيل عديد الأدينيلات، لكنه يحتوي على مـتـواليـة قـرب النهـاية ´3 يمكن أن تشكل بنيـة الجـذع والعـروة (Stem-loop structure) يبدو أنها توفّر مقاومة للهجوم الحال بالنوكليـاز الخـارجية. ويتدرك الرنا المرسـال للهيستـون H4 مثلاً بالاتجاه من ´3 إلى ´5، ولكن لا يحـدث ذلك إلا بعد حصـول قطع مفرد حال بالنوكليـاز الداخلية على بعد نحو 9 نوكليوتيدات من النهاية ´3 في منطقـة بنيـة الجـذع والعـروة الافتـراضـيـة. وتكون بنى الجـذع والعـروة في التسلسل غيـر المُرَمِّز ´3 مـهـمـة أيضـاً لتنظيم الرنا المرسـال المُرَمِّز للتـرانسفـيرين ومستقبله بواسطة الحديد. كما تترافق بنى الجذع والعروة بثبات الرنا المرسال في الجراثيم، مما يوحي بأن هذه الآلية قد تكون شائعة الاستخدام.

ويبدو أن هناك متواليات أخرى في النهايات 3´ من بعض جزيئات الرنا المرسال في حقيقيات النوى تساهم في زعزعة استقرار هذه الجزيئات. ومما يستحق اهتماماً خاصاً المناطق الغنية بـ AU، حيث يحتوي الكثير منها على التسلسل AUUUA الذي يظهر في جزيئات الرنا المرسال ذات العمر النصفي القصير جداً، بما في ذلك جزيئات الرنا المرسال المُرَمِّزة لبعض السيتوكينات والبروتينات الورمية. وقد تأكدت أهمية هذه المنطقة عبر تجربة تم فيها إضافة تسلسل موافق للمنطقة غير المُرَمِّزة 3´ (تحتوي على المتوالية AUUUA) من الرنا المرسال للعامل المنبه للمستعمرات CSF ذي العمر النصفي القصير إلى النهاية 3´ من الرنا المرسال للجلوبولين بيتا. وبدلاً من أن يصبح هذا الهجين مستقراً جداً، أصبح الرنا المرسال الهجين للجلوبولين بيتا ذا عمر نصفي قصير مشابهاً بذلك خاصيةَ الرنا المرسال للعامل المنبه للمستعمرات.

من الأمثلة القليلة السابقة، يبدو واضحاً أن هناك عدداً من الآليات المستخدمة في تنظيم استقرار الرنا المرسال، مثل الآليات العديدة المستخدمة في تنظيم تخليق الرنا المرسال تماماً. ويمنح التنظيم المتناسق لهاتين العمليتين تلاؤماً واضحاً للخلايا.



الشكل 41-20 : بنية الرنا المرسال النموذجي في حقيقيات النوى وتظهر فيها العناصر التي تساهم في تنظيم ثباتية (استقرار) الرنا المرسال. يكون للرنا المرسال النموذجي في حقيقيات النوى تسلسل غير مُرَمِّز 5´ (5´ NCS) ومنطقة مُرَمِّزة وتسلسل غير مُرَمِّز 3´ (3´ NCS). وكل جزيئات الرنا المرسال لديها قلنسوة عند النهاية 5´، ومعظمها يحوي الذيل عديد الأدينيلات عند النهاية 3´. وتحمي القلنسوة 5´ وذيل عديد الأدينيلات 3´ الرنا المرسالَ من هجوم النوكلياز الخارجية. ويعتقد أن بنى العرى الجذعية في 5´ NCS و 3´ NCS (في منطقة الترميز) والمنطقة الغنية بـAU في 3´ NCS تلعب دوراً في ثبات الرنا المرسال.

الخلاصة:

إن المعلومات الوراثية في كل الخلايا الجسدية متماثلة فعلياً. ويعتمد التمييز بين خلية من الدماغ أو العضلة أو الكبد على نموذج الجينات التي يجرى التعبير عنها في هذه الخلايا، وهو ما يدعى بالتعبير النوعي للأنسجة. كما تعتمد قدرة كائن ما على الاستجابة لتحديات البيئة المحيطة على قدرته على تنظيم تلك الجينات التي جرى التعبير عنها (سلباً أو إيجابياً). ويجري تحقيق كلا الهدفين من خلال تآثر بروتينات معينة مع مناطق محددة من الدنا (DNA) تدعى المِعازيز. وتوجد المِعززات عموماً عند النهاية ´5 من منطقة الترميز في الجين وبجوارها. ولقد تعلمنا الكثير عن كيفية اتصال البروتينات مع الدنا (DNA) كما جرى وصف العديد من أصناف هذا التآثر. وتتضمن هذه نماذج الحلِزّ ـ اللفَّة ـ الحلِزّ وأصابع الزنك وسحاب اللوسين. كما أن التآثرات البروتينية ـ البروتينية بين مكونات جهاز الاستنساخ مهمة أيضاً. وتحتوي البروتينات التي تنظم انتساخ الجينات على حقول مختلفة: حقل التعرف للارتباط مع الدنا أو مع بروتين آخر، وحقل أو أكثر يؤثر في بعض سمات جهاز الاستنساخ. وتكون هذه الحقول مميزة ومنفصلة كما توضحه التجارب العملية التي أُجريت على جزيئات مهجنة. وتوجد الآن معلومات هائلة عن كيفية إتمام عملية تنظيم الجين في الإشريكيَّة القولونية وعاثية الجراثيم لمدا. ويبدو أن هذه النماذج قابلة للتطبيق على عملية تنظيم الجين الأكثر تعقيداً لدى خلايا حقيقيات النوى.

ومن بين التعقيدات الإضافية نجد الآليات التي تنظم معالجة الرنا المرسال وتحويره واستقرار الرنا المرسال وتضخيم الجينات ومراتبتها. وتعطي كافة هذه العمليات آليات تلاؤمية تمنح البقيا للكائنات حقيقيات النوى.

تتقلب جزيئات الرنا المرسال ليتراوح عمرها النصفي من بضع دقائق إلى عدة أيام. ولذلك يعد تنظيم ثباتية الرنا المرسال مرحلةً تنظيم مهمة. ويساهم في ذلك متواليات في المناطق غير المُرَمِّزة ´5 و ´3 والمنطقة المُرَمِّزة من الرنا المرسال. وقد توجه هذه المتواليات ـ بالمشاركة مع البروتينات الرابطة ـ إنزيمات النوكلياز نحو الرنا المرسال، أو تحميه من هجومها.

***References:**

Bird AP: Function of DNA methylation in vertebrates. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 1993;58;281.

Busby S, Ebright RH: Promoter structure, promoter recognition, and transcription activation in prokaryotes. *Cell* 1994;79;743.

Cowell IG; Repression activation in the control of gene transcription. *Trends Biochem Sci* 1994;1;38.

Farrell S et al: Gene activation by recruitment of the RNA polymerase holoenzyme. *Genes Dev* 1996;10;2359.

Jacob F, Monod J: Genetic regulatory mechanisms in protein synthesis. *J Mol Biol* 1961;3;318.

Letchman DS: Transcription factor mutation and disease. *N Engl J Med.* 1996; 334; 28.

Lieber MR: The mechanism of V(D) J recombination: A balance of diversity, specificity and stability. *Cell* 1992;70;873.

Mc Knight SL: transcription revisited.*Genes Dev* 1996;10;367.

Ptashne M: A Genetic Switch, 2nd ed. Cell press and Blackwell Scientific Publications, 1992.

Ptashne M: Control of gene transcription: An outline. *Nat Med.* 1997;3;1069.

Tjian R: Molecular machines that control genes. *Sci Am* (Feb) 1995; 272; 54

Wu C: Chromatin remodeling and the control of gene expression. *J Biol Chem* 1997; 272;28171.

Wu R, Bahl CP, Narang SA: Lactose operator-repressor interaction. *Curr Top cell Regul* 1978;13;137.

الفصل الثاني والأربعون

تكنولوجيا الدنا (DNA) المأشوب

Recombinant DNA Technology

مقدمة:

لقد أحدثت تكنولوجيا الدنا المأشوب (Recombinant DNA technology) ثورة في علم البيولوجيا وأثراً يتزايد باطراد في عالم الطب السريري. ولقد تعلمنا الكثير عن الأمراض البشرية ذات الطابع الجيني (الوراثي) من خلال دراسة الأنساب (Pedigree analysis) والبروتينات المتأثرة؛ ولكن بقيت حالات عديدة لم نعرف العيب الجيني النوعي فيها يصعب استعمال هذه الطرائق. وأما هذه التكنولوجيا الحديثة فتغلبت على تلك القيود، واتجهت مباشرة إلى جزيء الدنا (DNA) للحصول على المعلومات المطلوبة. ويؤمن لنا التعامل مع تسلسل الدنا (DNA) وتخليق جزيئات مهجنة (ما يدعى الآن بالهندسة الوراثية) طرائق في دراسة كيفية عمل شدف معيَّنة من الدنا (DNA).

يهدف هذا الفصل إلى توضيح هذا الموضوع المعقد؛ وهو يعرض المفاهيم الأساسية لتكنولوجيا الدنا (DNA) المأشوب وتطبيقاتها في الطب السريري، وكذلك التزويد بموجز للمصطلحات المرتبطة بالموضوع. ولكي يكون هذا الفصل متكاملاً بحد ذاته، سنجد بعض التكرار لمواضيع شرحت في فصول أخرى.

الأهمية الطبية البيولوجية:

تكمن أهمية فهم تكنولوجيا الدنا (DNA) المأشوب في الأسباب التالية: (1) إن

ثورة المعلومات التي حصلت في هذا القطاع هي في الحقيقة مذهلة للغاية. ولكي نستوعب ونبقى على اطلاع مستمر على هذا الميدان، يجب على المرء أن يعرف المفاهيم الأساسية المتعلقة به؛ (2) إن هذه التكنولوجيا تعرض طريقة منطقية لفهم الأساس الجزيئي لعدد من الأمراض (مثل فرط كوليسترول الدم العائلي وفقر الدم المنجلي والثلاسيمية بأنواعها والتليف الكيسي والحثل العضلي)؛ (3) وباستخدام تكنولوجيا الدنا (DNA) المأشوب، أصبح من الممكن إنتاج بروتينات بشرية بكميات وفيرة للمعالجة (كالإنسولين وهرمون النمو ومنشِّط مولد البلازمين Plasminogen Activator)؛ (4) وقد أصبح بالإمكان أيضاً الحصول على بروتينات لاستعمالها في اللقاحات (التهاب الكبد B)، أو لاستعمالها في اختبارات التشخيص (مثل اختبار نقص المناعة المكتسب والإيدز AIDS)؛ (5) وتستعمل تكنولوجيا الدنا (DNA) المأشوب الآن في تشخيص الأمراض الموجودة، والتنبؤ بخطورة حدوث مرض ما؛ (6) كما أن استخدام بعض التكنولوجيا الخاصة أدى إلى تطور مذهل في الطب الشرعي؛ (7) وقد أصبح العلاج الجيني ممكناً لداء فقر الدم المنجلي والثلاسيميّة وداء عوز إنزيم نازعة أمين الأدينوزين وأمراض أخرى.

أدى إيضاح الصفات الأساسية للدنا (DNA) إلى تكنولوجيا الدنا المأشوب:

إن الدنا (DNA) مكثور (بَلْمر) حيوي (Biopolymer) معقد يتعضى بشكل حلزون مضاعف:

إن عنصر التعضي الأساسي هو تسلسل الأسس (القواعد) البورينية (الأدينين [A] أو الجوانين [G]) والبَيريميدينية (السيتوزين [C] أو الثيمين [A]). ترتبط هذه الأسس إلى الكربون 1 الموجود على سكر الريبوز منزوع الأكسجين (الديوكسي)؛ وترتبط القواعد بعضها ببعض من خلال ارتباط ثمالات السكر بروابط فُسفودَايسترية بين المواقع ´3 و ´5 (انظر الشكل 37-1). ويشكل تبادل سكر الريبوز منزوع الأكسجين مع مجموعات الفسفات هيكل الحلزون المضاعف (Double Helix) (انظر الشكل 37-2). ويحدد الارتباط ´3– ´5 هذا اتجاه طاق الدنا (DNA)؛ وبما أن طاقي الدنا (DNA) متعاكا في الاتجاه، لذا فإنهما متعاكسي التوازي.

يحدد تزاوج (ازدواج) الأسس (القواعد) مفهوماً رئيسياً في بنية الدنا (DNA) ووظيفته:

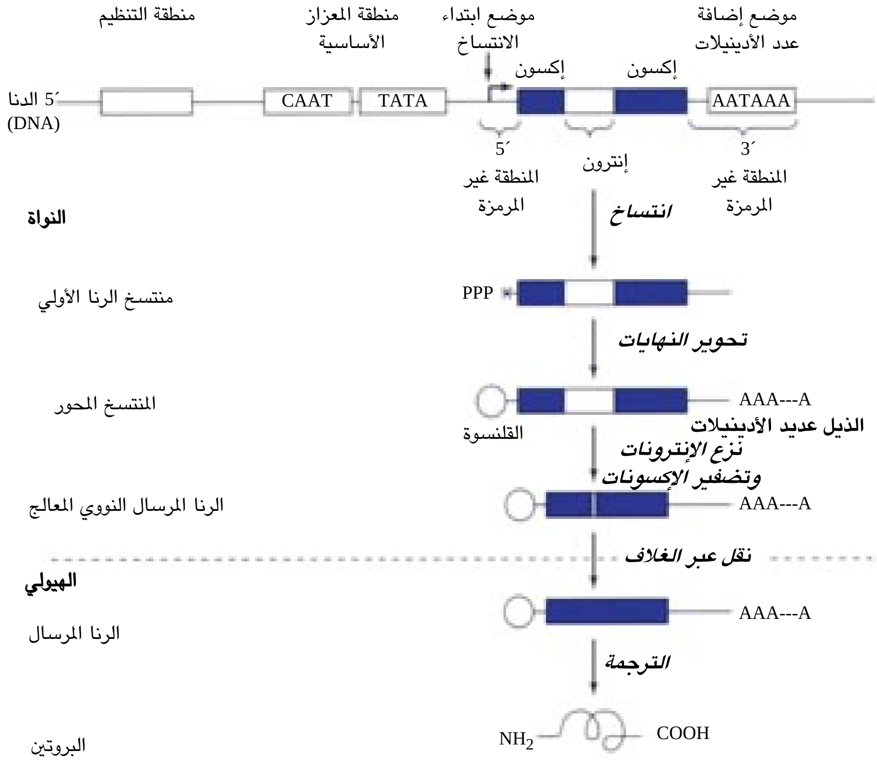
يتزاوج الأدينين والثيمين، من خلال الروابط الهيدروجينية، وكذلك يفعل الجوانين والسيتوزين (انظر الشكل 37-3)؛ ويقال عن هذه الأسس المزدوجة (Base-Pair) أنها تتميمية. وتكون كمية الجوانين في أية شدفة من الدنا (DNA) مساوية تماماً لكمية السيتوزين فيها، وينطبق الأمر كذلك على كميات الثيمين والأدينين والتي تتساوى أيضاً. ويعمل تزاوج الأسس، وكذلك التآثرات الكارهة للماء الناتجة عن تكدُّس الأسس، على إبقاء طاقي الدنا (DNA) معاً. ويمكن إنقاص هذه التآثرات بتسخين الدنا (DNA)، مما يؤدي إلى تمسخه (Denaturation) وتنبئ قوانين ازدواج الأسس بأن طاقي الدنا (DNA) المتتامَين سيعاودان الارتباط وبشكل مطابق ودقيق لما كانا عليه قبل التمسخ (Renaturation)، كما يحدث عند خفض درجة حرارة المحلول ببطء إلى الدرجة الطبيعية. وفي الحقيقة، يمكن تقدير درجة تزاوج أزواج الأسس (أو عدم تزاوجها) من درجة الحرارة المطلوبة للقيام بإحداث تمسخ الدنا (Denaturation) وإعادته إلى طبيعته (Renaturation). ولقد وجد أن شدف الدنا (DNA) التي تحتوي على درجة عالية من التزاوج بين الأسس تحتاج إلى طاقة (حرارة) أكبر لإحداث التّمسّخ. وبطريقة أخرى، تمتص شدف الدنا (DNA) المزدوجة جيداً حرارة أكبر قبل أن ينفصل الطاقان عن بعضهما بعضاً. ويستخدم هذا التفاعل لتحديد ما إذا كان هناك فوارق مهمة بين تسلسلين من الدنا (DNA)، ويقبع كأساس لعملية التهجين التي تشكل أساس العمليات التي ستأتي لاحقاً.

يوجد نحو 3×10^9 زوج أساس في كل مجين وراثي فرداني (Haploid Genome) لدى الإنسان؛ فإذا كان وسطي طول الجين هو 3×10^3 زوج أساس (ثلاثة كيلو أساس (kb))، فإن المَجين يمكن أن يحتوي على عدد من الجينات يساوي 10^6 (بافتراض أنه لا يوجد هناك تداخل، وأن عملية الانتساخ [Transcription] تتقدم باتجاه واحد). ولقد كان يعتقد بأن هناك نحو 10^5 جين عند الإنسان، وأن 10٪ فقط من الدنا (DNA) يقوم بترميز البروتينات؛ وأما وظيفة ما تبقى من دنا (DNA) (90٪) المجين البشري فلم تعرف حتى الآن.

يتكدس الدنا (DNA) الحلزوني المضاعف في بنية أكثر اكتنازاً بواسطة عدد من البروتينات أهمها البروتينات القاعدية التي تدعى الهيستونات. وهذا التكثيف قد يلعب دوراً تنظيمياً ولابد أن له هدفاً عملياً. ولو انبسط الدنا (DNA) الموجود داخل نواة الخلية لقارب طوله متراً واحداً؛ إلا أن بروتينات الكروموسومات تختزل الطول الطويل للدنا (DNA)، بحيث يمكن أن يتعبَّأ داخل النواة وبحجم يعادل ميكرونات مكعبة قليلة.

يتعضى الدنا (DNA) على شكل جينات:

تتألف جينات طليعيَّات النوى بشكل عام من منطقة تنظيم صغيرة (مكونة من 100-500 زوج أساس) وشدف كبيرة لترميز البروتين (مكونة من 500-1000 زوج من الأسس). ويجري التحكم بعدة جينات عن طريق منطقة تنظيم صغيرة واحدة فقط. وأما الجينات لدى الثدييات، فمعظمها يكون أكثر تعقيداً، حيث يجري اعتراض مناطق الترميز بمناطق غير مرمزة ناتجة يجب حذفها عند تحويل منتسخ الرنا (RNA) الأولي إلى الرنا المرســال (mRNA) الناضج (mRNA). وتدعى مناطق التـرمـيـز (المناطق التي تظهـر في الأنواع المتـعـددة من الرنا (RNA) (الناضج) بالإكسونات، أما المناطق غير المُرمِّزة التي تعترض الإكسونات أو تتناثر بينها فإنها تدعى الإنترونات (الشكل 42-1). ويجري انتزاع الإنترونات عادة من سلف الرنا قبل انتقاله إلى الهيولى. ويُطلَق على العملية التي بواسطتها يجري انتزاع الإنترونات من سلف الرنا (RNA)، وكذلك عملية ربط الإكسونات بعضـها مع بعض، اسم تضـفـيـر الرنا (RNA Splicing). وأي خطأ في التعـامل مع المُنتسَخ الأولي عند تحويله إلى الرنا المرسال (mRNA) الناضج سيؤدي إلى التسبُّب في مرض ما لدى الإنسان (انظر لاحقاً)، وهذا يؤكد أهمية التحويرات التي تحصل بعد الانتساخ. وقد جرى توضيح الاختلاف في الحجم ودرجة التعقيد بين بعض الجينات البشرية في (الجدول 24-1).



الشكل 42-1 : وحدة الانتساخ في حقيقيات النوى وسبيل التعبير الجيني فيها. تحتوي الجينات في حقيقيات النوى على مناطق بنيوية وأخرى تنظيمية، وتتألف المنطقة البنيوية من الدنا (DNA) المرمِّز ومتواليات الدنا (DNA) غير المُرمِّزة ´5 و ´3. وتقسم المناطق المرمزة إلى نوعين : (1) الإكسونات التي تلتحم في نهاية الأمر لتصبح رنا (RNA) ناضجا؛ (2) والإنترونات التي تنتزع من المنتسخ الأولي. وترتبط المنطقة البنيوية عند نهايتها ´5 بموضع ابتداء الانتساخ، وعند نهايتها ´3 بموضع إضافة عديد الأدينيلات أو الإنهاء. وقد ناقشنا منطقة المِعزاز التي تتألف من متواليات دنا (DNA) نوعية تتآثر مع عوامل بروتينية مختلفة لتنظيم الانتساخ في الفصلين 39 و 41 بالتفصيل. ويحتوي المنتسخ الأولي على بنية خاصة هي القلنسوة التي تقع عند النهاية ´5 وعلى امتداد من الأدينيلين عند النهاية ´3. ويعالج هذا المنتسخ لنزع الإنترونات، ثم ينقل الرنا المرسال الناضج إلى الهيولى حيث يترجم إلى بروتين.

وبالرغم من أنه توجد فروق تصل إلى 300 ضعف في أحجام الجينات الموضحة، إلا أن أحجام الرنا المرسال (mRNA) تختلف فقط بنحو 20 ضعفاً. ويعود ذلك إلى أن معظم الدنا (DNA) الموجود في الجينات موجود على شكل إنترونات تميل عادة إلى أن تكون أكبر بكثير من الإكسونات. وتتوضع المواقع التنظيمية لمعظم جينات حقيقيات النوى على الدنا (DNA) الذي يطوق موقع ابتداء الانتساخ من الجهة ´5 (تسلسل الدنا المجاور من الجهة ´5).

وفي بعض الأحيان، توجد المتواليات هذه داخل الجين نفسه، أو في المنطقة التي تجاور النهاية ´3 من الجين. وأما في خلايا الثدييات، فإننا نجد أن لكل جين منطقته التنظيمية الخاصة به. وهناك العديد من جينات حقيقيات النوى (وكذلك بعض الفيروسات التي تتكاثر في خلايا الثدييات) لها مناطق خاصة تعرف باسم المعززات (المحرضات Enhancers)، والتي تزيد من معدل الانتساخ. وهناك بعض الجينات التي تحتوي على متواليات دنا (DNA) تعرف بالمسكتات (Silencers) وتعمل على تخفيض معدل الانتساخ. وتبدو جيناتُ الثدييات معقدة بوضوح، ويدخل في بنيتها عدة مكونات.

يجري انتساخ الجينات إلى رنا (RNA):

إن المعلومات بشكل عام تسير من الدنا (DNA) إلى الرنا المرسال (mRNA)، ومن ثم إلى بروتين كما هو موضح في (الشكل 42-1)، وسبق شرحه بتفصيل أكثر في (الفصل 41). وهذه العملية مراقبة بصرامة، وتتضمن عدداً من الخطوات في غاية التعقيد، كل واحدة منها وبلا شك منظمة بواسطة إنزيم أو تميم عامل واحد أو أكثر. وأي خطأ وظيفي في أي من هذه الخطوات سيؤدي حتماً إلى حدوث مرض.

الجين	حجمه (Kb)	عدد الانترونات	حجم الرنا المرسال (Kb)
الجلوبين بيتا	1.5	2	0.6
الإنسولين	1.7	2	0.4
المستقبل الأدريني بيتا	3	0	2.2
الألبومين	25	14	2.1
مستقبل LDL	45	17	5.5
العامل الثامن	186	25	9.0
الثيروجلوبولين	300	3	8.7

الجدول 42-1 : الاختلافات في حجم بعض الجينات البشرية وجزيئات الرنا المرسال وفي تعقيدها [1].

(1) أعطيت الأحجام بالكيلو أساس (kb). وتشتمل أحجام الجينات على بعض متواليات مناطق المِعزاز القريبة والتنظيم، ويكون لهذه عموماً الحجم نفسه في كافة الجينات. ويختلف حجم الجينات من نحو 1500 زوج من الأسس إلى أكثر من 2×10^6 زوج من الأسس. وهناك تباين كبير أيضاً في عدد الإنترونات والإكسونات؛ فيخلو جين المستقبل الأدريني بيتا من الإنترونات، وأما جين الثيروجلوبولين ففيه 36 إنتروناً . وسيتضح من الفروق الصغيرة في أحجام الرنا المرسال أن الإنترونات تشكل معظم المتوالية الجينية.

تتضمن تكنولوجيا الدنا المأشوب عزل الدنا (DNA) ومعالجته لتصنيع الجزيئات الخَيْمَرِيَة (الهجينة) (Chimeric molecules):

يشكل عزل الدنا (DNA) ومعالجته، بما في ذلك ربط المتواليات (نهاية إلى نهاية) من مصادر مختلفة لتصنيع الجزيئات الخَيْمَرِيّة Chimeric (مثل جزيئات تحتوي على متواليات الدنا (DNA) من كل من الإنسان والجراثيم)، الجوهر الأساسي لأبحاث الدنا (DNA) المأشوب. وهذا يتضمن عدة طرائق فريدة من نوعها وعدّة كواشف.

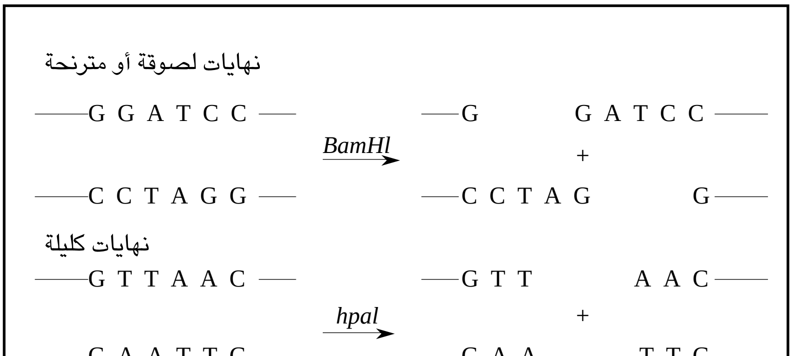
تقطع إنزيمات الاقتطاع (Restriction Enzymes) سلاسل الدنا(DNA) في مواقع نوعية محدَّدة:

إن أحد الأدوات الرئيسية في أبحاث الدنا (DNA) المأشوب هي مجموعة معينة من إنزيمات النوكليـاز الداخليـة، وهي نوع من الإنزيمات التي تقطع الدنا (DNA) عند متواليات محددة منه تقع داخل الجزيء (على عكس إنزيمات النوكلياز الخارجية والتي تقوم بهضم الأطراف النهائية لجزيئات الدنا (DNA)) ودعيت هذه الإنزيمات عند اكتشافها بإنزيمات الاقتطاع، لأن وجودَها في خلية جرثومية ما يحد من نمو بعض ڤيروسات الجراثيم التي تدعى عاثيات الجراثيم (Bacteriophages). وتقطع إنزيمات الاقتطاع الدنا (DNA) أيا كان مصدره إلى شُدف صغيرة، وذلك بطريقة محددة تعتمد على تسلسل محدد ـ بخلاف معظم الطرائق الإنزيمية والكيميائية والفيزيائية الأخرى التي تكسر الدنا (DNA) بشكل عشوائي. وهذه الإنزيمات الدفاعية (اكتشف المئات منها) تعمل على حماية الدنا (DNA) الجرثومي المضيف من دنا (DNA) قادم من كائنات غريبة (العاثيات المعدية بشكل رئيسي). ولكنها على أي حال، تكون موجودة فقط في خلايا تحتوي أصلاً على إنزيم آخر مرافق يقوم بمَثْيَلة الدنا (DNA methylation) المضيف جاعلاً إياه ركيزة غير قابلة للهضم من قبل إنزيم الاقتطاع. ولهذا توجد إنزيمات مَثْيَلة الدنا (DNA) المعتمدة على التسلسل وإنزيمات الاقتطاع دائماً بشكل أزواج في الخلايا الجرثومية.

وتسمى إنزيمات الاقتطاع باسم الجرثومة التي عزلت منها؛ فعلى سبيل المثال، *EcoRI* هو من الإشريكية القولونية، و *bamHI* هو من العصوية المميعة للنشا *(Bacillus amyloliquefaciens)* (الجدول 42-2). وتتكون الأحرف الثلاثة الأولى من اسم إنزيم الاقتطاع من الحرف الأول لاسم الجنس (E) والحرفين الأولين من النوع (co)؛ وقد يُتْبع ذلك برمز الذرية R ورقم روماني (I) للدلالة على الترتيب الزمني للاكتشاف، (مثل *EcoRI* و *EcoRII*) ويقوم كل إنزيم بالتعرف على تسلسل معين من الدنا (DNA) ذي الطاق المزدوج ويبلغ طوله 4-7 زوج من الأسس والعمل على شطره. وهذا يؤدي إلى استحداث نهايات كليلة (Hpal) أو نهايات متراكبة (لصوقة) (*BamHI*) (الشكل 42-2) بحسب الآلية التي يستخدمها الإنزيم. ويكون للنهايات اللصوقة أهمية خاصة في تكوين جزيئات دنا (DNA) خَيْمَرِيّة (هجينة) (انظر

لاحقاً). وإذا كانت النوكليوتيدات موزعة بشكل عشوائي في جزيء دنا (DNA) ما، فإنه بالإمكان حساب مدى تكرار شدف جزيء من الدنا (DNA) بإنزيم معين. وهناك أربعة احتمالات لكل موقع في جزيء الدنا (A أو C أو G أوT)؛ ومن ثم فإن إنزيم الاقتطاع الذي يتعرف على تسلسل مكون من 4 أزواج من الأسس يقطع بمعدل وسطي قدره مرة كل 256 زوج من الأسس (4^4)، بينما يقوم إنزيم آخر يتعرف على تسلسل بطول 6 أزواج من الأسس بالقَطع مرة كل 4096 زوج (4^6). ويكون لشدفة معينة من الدنا (DNA) مصفوفة خطية لمواقع عدة إنزيمات؛ وهكذا أصبح بالإمكان إنشاء خريطة اقتطاع. وعند هضم الدنا (DNA) بوساطة إنزيم ما، فإن كل الشدف الناجمة سيكون لها نهايات تحتوي على تسلسل الدنا (DNA) نفسه؛ ويمكن عزل الشدف الناتجة بوساطة الرحلان الكهربي على الأجاروز أو عديد الأكريلاميد (انظر مناقشة نقل اللطخة (blot transfer) لاحقاً)، وهذا يشكل خطوة أساسية في عمليات التنسيل والاستخدام الأهم لهذه الإنزيمات.

هناك عدد آخر من الإنزيمات التي تستطيع العمل على الدنا (DNA) والرنا (RNA)، وتلعب دوراً مهماً في تكنولوجيا الدنا المأشوب. وسوف يجري التطرق لعدد منها في هذا الفصل والفصول التالية (الجدول 42-3).



الشكل 42-2 : نتائج الهضم بنوكلياز الاقتطاع الداخلية، يمكن أن يؤدي الهضم بنوكلياز الاقتطاع الداخلية إلى تشكيل شدف دنا (DNA) ذات نهايات لصوقة (A) أو ذات نهايات كليلة (B) ولهذا أهمية في وضع استراتيجيات التنسيل.

النوكلياز الداخلية	التسلسل المقتطع	المصدر الجرثومي
BamHI	G↓G A T C C C C T A G↑G	العصوية المستحلبة للنشاء
BgIII	A↓G A T C T T C T A G↑A	العصوية الكروية
EcoRI	G↓A A T T C C T T A A↑G	الإشريكية القولونية RY13
EcoRII	↓C C T G G G G A C C↑	الإشريكية القولونية R245
HindIII	A↓A G C T T T T C G A↑A	المستدمية النزلية Rd
HhaI	G C G↓C C↑G C G	المستدمية الحالة للدم
HpaI	G T T↓A A C C A A↑T T G	نظيرة المستدمية النزلية
MstII	C C↓T N A G G G G A N T↑C C	ذرية الميكروكولية
PstI	C T G C A↓G G↑A C G T C	البروفيدنسية الستورتية 164
TaqI	T↓C G A A C G↑A	المستحرة المائية YTI

الجدول 2-42 : التسلسلات النوعية لنماذج مختارة من إنزيمات نوكلياز الاقتطاع الداخلية 1.
1 A : الأدنين؛ C: السيتوزين ؛G: الجوانين ؛T: الثيمين. وتظهر الأسهم موضع الشطر؛ وبالاعتماد على هذا الموضع يمكن أن تنتج النهايات اللصوقة *(BamHI)* أو النهايات الكليلة *(Hpal)*. ويمكن أن يكون طول تسلسل التعرف 4 أزواج من الأسس *(Taql)* أو خمس أزواج *(EcorII)* أو 6 أزواج *(EcoRI)* أو 7 أزواج *(MstII)*. وقد تم الاتفاق على أن تُكتب هذه عادة في الاتجاه ´5 إلى ´3 بالنسبة إلى الطاق العلوي من كل تسلسل تعرف. ويظهر الطاق السفلي مع قطبية معاكسة (أي ´3 إلى ´5). لاحظ أن معظم متواليات التعرف هي ذات سياق متناظر (أي تُقرأ المتوالية نفسها في الاتجاهات المعاكسة على الطاقين) وتعني الثمالة التي يرمز لها بالحرف N أنها يمكن أن تكون أي نوكليوتيد.

الإنزيم	التفاعل	الاستعمال الرئيسي
الفسفاتاز القلوية	نزع فسفات النهاية ´5 الدنا والرنا	نزع الفسفات ´5 قبل الوسم بالكيناز لمنع الارتباط الذاتي
نوكلياز BAL 31	تدرك النهايتين ´3 و ´5 من الدنا	التقصير المتتابع لجزيئات الدنا
ليجاز الدنا	تشكيل الروابط بين جزيئات الدنا	ربط جزيئات الدنا
بوليميراز الدنا I	تخليق دنا مضاعف الطاق من الدنا وحيد الطاق	تخليق الدنا المتمم مضاعف الطاق، ترجمة الصدعة
ديوكسي ريبونوكلياز I	إحداث صدعة في طاق الدنا في ظروف مناسبة	ترجمة الصدعة؛ موضعة المواقع مفرطة الحساسية
النوكلياز الخارجية III	نزع نوكليوتيدات من النهاية ´3 للدنا	سلسلة الدنا؛ موضعة التآثرات بين البروتينات والدنا
النوكلياز الخارجية من لمدا	نزع نوكليوتيدات من النهاية ´5 للدنا	سلسة الدنا
كيناز عديد النوكليوتيد	نقل الفسفات المطرافية (الموضع جاما) من الأتب إلى الهيدروكسيل ´5 من الدنا أو الرنا	وسم الدنا والرنا بالنظير 32P
المنتسخة العكسية	تخليق الدنا من رنا مرضاف	تخليق الدنا المتمم من الرنا المرسال، دراسات موضعة النهايات ´5 للرنا
النوكلياز SI	تدرك الدنا وحيد الطاق	نزع بنية «دبوس الشعر» خلال تخليق الدنا المتمم؛ دراسات موضعة الرنا (النهايات ´5 و ´3).
الناقلة المطرافية النهائية	إضافة نوكليوتيدات للنهاية ´3 من الدنا	التذييل المتجانس للبلمر

الجدول 42-3 : بعض الإنزيمات المستخدمة في أبحاث الدنا المأشوب*.

* : الدنا = DNA، الرنا = RNA.

تستخْدَم إنزيمات الاقتطاع وليجاز الدنا (DNA Ligase) لتحضير جزيئات خَيْمَرِيَة من الدنا DNA:

من السهل تقنياً ربط النهايات اللصوقة، ولكن يحتاج الأمر لبعض التقنيات للتغلب على ما قد ينجم من المصاعب في هذه الطريقة. فقد ترتبط النهايات اللصوقة للناقل (Vector) بعضها مع بعض دون إضافة جزيء دنا (DNA)، كما يمكن للنهايات اللصوقة للشدف أن ترتبط بعضها ببعضها الآخر بشكل غُرَز متغايرة. وقد تغيب مواقع النهايات اللصوقة أو تكون موجودة في مواقع غير مناسبة. وللتغلب على هذه المشكلات، يجري استخدام إنزيم ما يولد نهايات كليلة تربط بها نهايات جديدة باستخدام إنزيم الناقلة النهائية المطرافية (Terminal transferase)؛ فإذا جرت إضافة عديد الديوكسي جوانيلات (dG) إلى الناقل عند النهايات 3´، وعديد الديوكسي سيتيديلات (dC) إلى النهايات 3´ من الدنا (DNA) الغريب (Foreign)، يصبح بإمكان هذين الجزيئين فقط الاندماج مع بعضهما بعضاً، ومن ثم يجري حل المشكلات المذكورة سابقاً. وتقوم هذه العملية، والتي تسمى تذييل المكثور (البَلْمَر) المتماثل (Homopolymer tailing)، بتوليد موقع اقتطاع للإنزيم Sma I، ومن ثم يصبح اكتشاف الشدفة سهلاً.

وفي بعض الأحيان، يلحم رابط من قلائل النوكليوتيد المصنعة مع تسلسل معين يشكل موقع اقتطاع مناسب ويربط إلى النهايات الكليلة. ويتحقق الربط المباشر مع النهايات الكليلة باستخدام إنزيم العاثية الجرثومية ليجاز دنا T4. ويكون لهذه الطريقة، والتي تبدو أكثر صعوبة من طريقة ربط النهايات اللصوقة، فائدة مهمة، وهي ربط أي زوج من النهايات. وأما سلبياتها فتتمثل بغياب الرقابة على توجه الغرز أو عدد الجزيئات التي ستلتحم مع بعضها بعضاً، وعدم وجود طريقة سهلة لاسترجاع الشدف المغروزة.

التنسيل (Cloning) يضخم الدنا (DNA):

النسيلة (Clone) هي مجموعة كبيرة من الجزيئات أو الجراثيم أو الخلايا المتماثلة ذات السلف الواحد. ويسمح التنسيل بإنتاج عدد كبير من جزيئات الدنا

(DNA) المتطابقة بحيث يمكن التعرف على خصائصها أو استعمالها لأغراض أخرى. وتأسست هذه الطريقة على حقيقة أنه يمكن تخليق جزيئات دنا (DNA) مهجَّنة أو خَيْمَرِيّة في نواقل التنسيل (Cloning vectors) كالبلازميدات الجرثومية أو العاثيات أو الكوزميدات (Cosmides)، والتي تتابع بعدها تضاعفها في خلية المضيف تحت نظم الرقابة التابعة لها. وبهذه الطريقة، يتم تضخيم الدنا (DNA) الهجين. والطريقة العامة موضحة في (الشكل 42-3).

البلازميدات الجرثومية (Bacterial blasmids) هي جزيئات دنا (DNA) مزدوجة وصغيرة ودائرية، ووظيفتها الطبيعية أن تؤمن مقاومة تجاه المضادات الحيوية في الخلية المضيفة. وتتصف البلازميدات بأن لها خصائص عدة تجعلها ذات فائدة عالية كنواقل تنسيل؛ فهي موجودة داخل الجرثوم كنسخة مفردة أو نسخ متعددة، وتتضاعف بشكل مستقل عن الدنا (DNA) الجرثومي؛ وبات التسلسل الكامل لدنا (DNA) العديد من البلازميدات معروفاً الآن، مما يسمح بتحديد دقيق للمواقع النوعية لإنزيم الاقتطاع والتي سيغرز عندها الدنا (DNA) الغريب. والبلازميدات أصغر حجماً من كروموسوم الخلية المضيفة، ويسهل، بالتالي، فصلها عنه؛ أما الدنا (DNA) المطلوب فيمكن نزعه بسهولة بقَطْع البلازميد بوساطة الإنزيم النوعي لموقع الاقتطاع الذي كان قد غرز فيه الدنا (DNA) المطلوب.

أما العاثيات (Phages) فتحتوي عادة على جزيئات دنا (DNA) خطية يمكن إضافة دنا (DNA) غريب إليها في عدة مواقع لإنزيمات الاقتطاع، ويجري تجميع الدنا (DNA) الهجين أو الخَيْمَري بعد أن تدخل العاثية في دورتها الانحلالية، وتنتج جزيئات عاثية ناضجة قابلة للإعداء. والميزة الرئيسية لنواقل العاثيات هي أنه بينما تحمل البلازميدات شدف دنا(DNA) بنحو 6-10 كيلو أساس طولاً، فإن العاثيات تقبل شدف دنا (DNA) مكونة من 10-20 كيلو أساس، وهذا التقييد تفرضه كمية الدنا (DNA) التي يمكن رزمها داخل رأس العاثية.

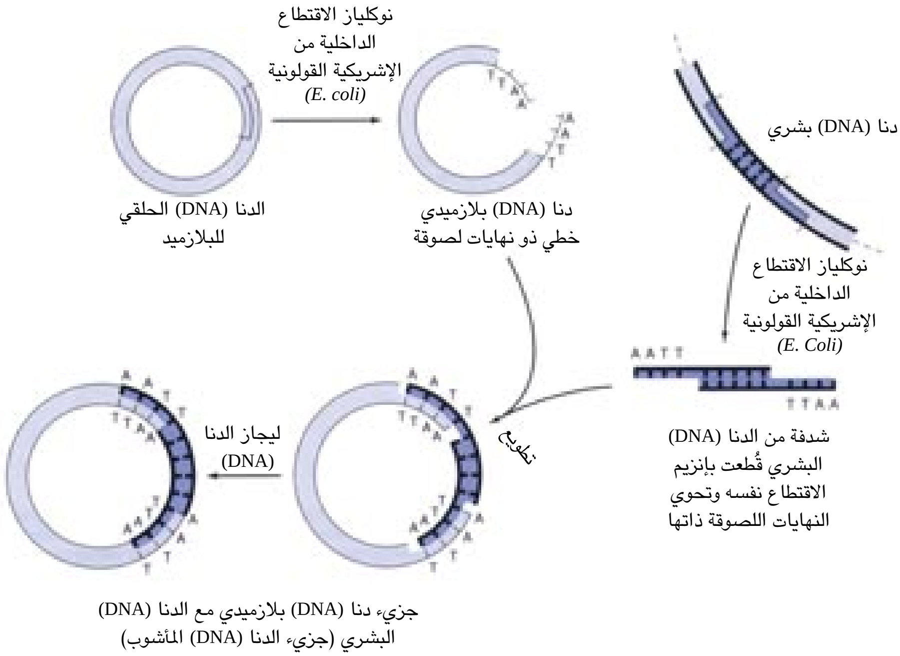
وهناك إمكانية لتنسيل شدف دنا (DNA) كبيرة في الكوزميدات، والتي تجمع أفضل صفات كل من البلازميدات والعاثيات. والكوزميدات هي بلازميدات تحتوي على متواليات دنا (DNA) تدعى مواضع Cos، وهي ضرورية لرزم الدنا (DNA) لمدا

(Lambda DNA) داخل العاثية. وتنمو هذه النواقل بشكلها البلازميدي داخل الجرثومة، ولكن: بما أنه جرى انتزاع الكثير من الدنا لمدا غير الضروري، فإن المزيد من الدنا (DNA) الهجين بالإمكان رزمه داخل رأس هذا الجزيء. وليس من غير المألوف أن تحمل الكوزميدات غرزات (Inserts) من الدنا (DNA) الهجين أو الخَيْمَرِي يصل طولها إلى نحو 35-50 كيلو أساس. ويمكن إدخال الشُّدَف الأكبر من الدنا في الكروموسوم الجرثومي الصنعي (BAC) أو كروموسوم الخميرة الصنعي(YAC) أو نواقل P1. وتتقبل هذه النواقل غُرز الدنا التي يبلغ طولها عدة مئات من كيلوات الأسس أو أكثر وبدأت تحتل مكان النواقل الأخرى (البلازميد والعاثية والكوزميد). ويحوي (الجدول 42-4) مقارنة بين هذه النواقل.

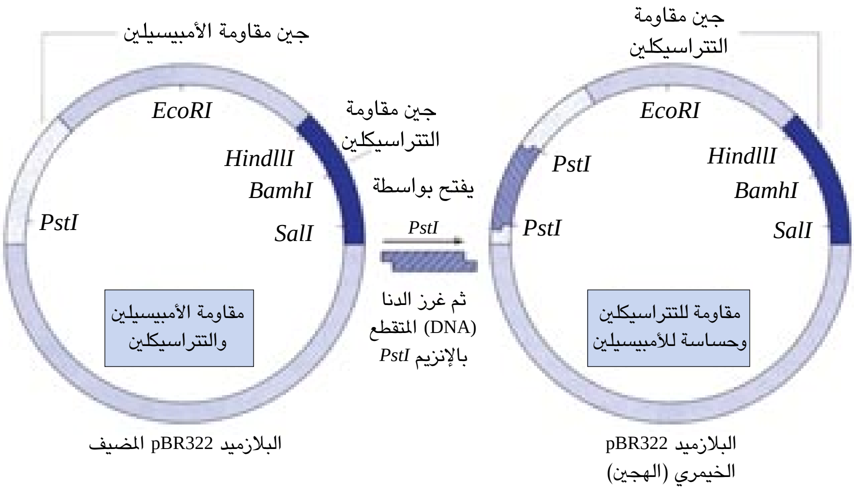
إن غرز الدنا (DNA) في منطقة وظيفية لناقل سيؤثر في عملها، ومن ثم فإن الحرص مطلوب لتجنب التأثير في وظيفة أساسية لهذا الناقل. ويمكن استغلال هذا الأمر لتأمين طريقة انتقاء مناسبة. فعلى سبيل المثال، يوجد في البلازميد الناقل pBR322 جينات مقاومة للتتراسيكلين *(tet)* وأخرى مقاومة للأمبيسيلين *(amp)*. ومن الشائع استخدام موقع PstI واحد داخل جين مقاومة الأمبيسيلين لغرز شدفة ما من الدنا (DNA) الغريب؛ وبالإضافة لوجود نهايات لصوقة (الجدول 42-2 والشكل 42-2)، فإن الدنا (DNA) المغروز في هذا الموقع سيؤدي إلى خلل في جين مقاومة الأمبيسيلين *(amp)* يجعل الجرثومة التي تحمل هذا البلازميد حساسة للأمبيسيلين (الشكل 42-4)؛ لذا فإن من السهل فصل البلازميد الأصلي، المزود بالمقاومة لكلا المضادين الحيويين، عن البلازميد الهجين أو الخَيْمَرِي والمقاوم للتتراسيكلين فقط.

الناقل	حجم الدنا الممكن غرزه
البلازميد pBR322	0.01-10 كيلو أساس
الشارون لمدا 4A	10-20 كيلو أساس
الكوزميدات	35-50 كيلو أساس
BAC و P1	50-250 كيلو أساس
YAC	0.5-3 ميجا أساس

الجدول 42-4 : نواقل التنسيل الشائعة.



الشكل 42-3 : استعمال إنزيمات نوكلياز الاقتطاع لصنع جزيئات دنا (DNA) مأشوبة أو خَيْمَرِيّة جديدة. عندما يغرز دنا (DNA) البلازميد في خلية جرثومية (بعملية تدعى التَحويل)، لا يُنْتَسَخ هذا الدنا (DNA) بنفسه فقط، وإنما يتنسخ الغرز الدناوي الجديد المرتبط فيزيائيا به. وبما أن تأشيب النهايات اللصوقة، كما هو مشار إليه، يعيد توليد تتابع الدنا (DNA) نفسه الذي يتعرف عليه إنزيم الاقتطاع الأصلي، لذلك يمكن قطع غرز الدنا (DNA) المنسل قَطْعاً نظيفاً وإخراجه من دورة البلازميد المأشوب بإنزيمات النوكلياز الداخلية هذه. وإذا صنعنا مزيجاً من كافة شدف الدنا (DNA) الناجمة عن معالجة الدنا (DNA) البشري الكامل بنوكلياز اقتطاع مفردة واستخدمناه كمصدر للدنا (DNA) البشري، يمكن الحصول تقريباً على مليون من الأنماط المختلفة لجزيئات الدنا (DNA) المأشوب، وكل منها نقي في نسيلته الجرثومية.



الشكل 4-42 : طريقة تحري الجزيئات المأشوبة بحثاً عن شدف الدنا (DNA) المغروزة. باستعمال البلازميد pBR322، تغرز شدف الدنا(DNA) في الموضع الوحيد المتميز Pst1. ويمزِّق هذا الغرز الجين المرمِّز للبروتين الذي يعطي مقاومة الأمبيسيلين في الجرثومة المضيفة؛ وبذلك لا يعود البلازميد الخَيْمَري قادراً على البُقيا عندما يوضع في وسط يحتوي على هذا المضاد الحيوي. ولَذلك يمكن استخدام الحساسية التفريقية تجاه التتراسيكلين والأمبيسيلين في تمييز نسائل البلازميد التي تحتوي على غرز ما.

المكتبة (Library) هي مجموعة نسائل مأشوبة:

إن الجمع بين إنزيمات الاقتطاع ونواقل التنسيل المختلفة يسمح برزم المجين الكامل لكائن ما في ناقل واحد، وتدعى مجموعة هذه النسائل المأشوبة المختلفة بالمكتبة. ويجري تجهيز المكتبة المجينية (Genomic library) من كامل الدنا (DNA) الموجود في نوع معين من الخلايا أو الأنسجة، وتمثل مكتبة الدنا المتمم (cDNA) مجموع جزيئات الرنا المرسال (mRNAs) الموجودة في نسيج ما. ويجري تجهيز المكتبات المجينية عن طريق إجراء هضم جزئي لكل الدنا (DNA) بوساطة إنزيم

اقتطاع (مثل SauIIIA) يقطعه في مواقع تؤدي إلى توليد شدف كبيرة تبقى فيها معظم الجينات سليمة. ويفضل لهذه المكتبات استخدام نواقل BAC و YAC و P1 لأنها تحتوي على شدف طويلة جداً من الدنا، ومن ثم تبدي فرصة جيدة لعزل جين سليم من شدفة دنا واحدة.

يدعى الناقل الذي يحوي جيناً أدخل بوساة تكنولوجيا الدنا المأشوب وتم فعلياً تخليق البروتين المُرمَّز من قبل هذا الجين بناقل التعبير (Expression vector). وتستخدم الآن مثل هذه النواقل، وبشكل كبير، للكشف عن جزيئات cDNA معينة في المكتبات ولإنتاج بروتينات بوساطة تقنيات الهندسة الوراثية. إن هذه النواقل تبنى خصيصاً لكي تحتوي على معازيز (Promoters) قابلة للتحريض بفعالية عالية وروامز (Codons) ابتداء الترجمة في المرحلة المناسبة وإشارات إنهاء الانتساخ والترجمة، وكذلك إشارات معالجة البروتين المناسبة إذا كان هناك حاجة لها. وهناك بعض نواقل التعبير التي تحتوي على جينات بإمكانها أن ترمز لمثبطات البروتيازات، ومن ثم فإن المحصول النهائي من الناتج سوف يزيد.

تبحث المسابير في المكتبات عن جينات معينة أو جزيئات دنا متمم (cDNA):

هناك عدد من الجزيئات المختلفة التي يمكن استخدامها لسبر المكتبات بحثاً عن جين معين أو جزيء cDNA، أو للتعرف على الدنا (DNA) أو الرنا (RNA) اللذين جرى فصلهما بوساطة الرحلان الكهربي من خلال استعمال هلامات مختلفة، وتقدير كميتها. والمسابير هي عموماً شدف من الدنا (DNA) أو الرنا (RNA) موسومة بنوكليوتيدات تحتوي على النظير المشع ^{32}P. ويجب على المسبار أن يتعرَّف على تسلسل متمم له كي يكون فعالاً. ويمكن استخدام جزيء cDNA جرى تصنيعه من mRNA معين لتحري مكتبة cDNA بحثاً عن cDNA أطول، أو مكتبة مجينيّة بحثاً عن تسلسل متمم في منطقة ترميز جين ما. وتتضمن الطريقة الشائعة لإيجاد جينات معينة، أخذ متوالية قصيرة من الأحماض الأمينية، ثم صنع مسبار قليل النوكليوتيد باستخدام الراموز الجيني (انظر الفصل 40). يستطيع هذا المسبار أن

يقوم بالتحري عن شدفة الدنا (DNA) الموافقة في المكتبة المَجينية؛ فإذا تطابقت المتواليات تماماً فسوف تجري عملية تهجين مسابير بطول 15-20 نوكليوتيداً. وتُستخدم مسابير cDNA أيضاً للتحري عن شدف الدنا (DNA) على نواقل تلطيخ نورثرن، وكذلك للكشف عن الرنا (RNA) على نواقل تلطيخ ساوثرن وتحديد كميته. وهناك إمكانية لاستخدام بعض الأضداد (Antibodies) الخاصة كمسابير، بشرط أن يقوم الناقل الذي سيستخدم بتخليق جزيئات البروتين التي يمكن التعرُّف عليها من قبل هذه الأضداد.

تسمح تكنولوجيا التلطيخ والتهجين بإظهار شدف معيَّنة:

يتطلب إظهار شدف معينة من الدنا (DNA) أو الرنا (RNA) بين عدة آلاف من الجزيئات الشائبة «الملوِّثة» الجمع بين عدد من التقنيات اصطلح على تسميتها مجتمعة باسم نقل اللطخة (Blot transfer) ويوضح الشكل 42-5 طرائق نقل لطخات ساوثرن (Southern) (الدنا) ونورثرن (الرنا (RNA)) وويستيرن (Western) (البروتين). (تمت تسمية الطريقة الأولى نسبة إلى الشخص الذي صممها؛ وأما الاسمان الآخران فقد ظهرا أولاً كنكتة في المختبر، ثم تم اعتمادهما لاحقاً). وتفيد هذه الطرائق في تحديد عدد نسخ جين معين في نسيج ما، أو إظهار ما إذا كانت هناك أية تغيرات واضحة في هذا الجين (خبن أو غرز أو مراتبة). وفي بعض الأحيان، إذا جرى تغيير قاعدة أو أساس نتروجيني معين، وتبدل موقع اقتطاع ما، فإنه يمكن لهذه الطرائق أن تكشف عن الطفرات النقطية. وتستخدم طريقتا نورثرن وويستيرن لنقل اللطخة الآن بهدف معرفة حجم جزيئات الرنا (RNA) والبروتين (على الترتيب) وتحديد كميتها. وتتفحص طريقة تهجين رابعة، لطخة ساوثرن، التآثرات بين البروتين والدنا بحيث تفصل البروتينات بالرحلان الكهربي ثم تعاد إلى طبيعتها، وتدرس إمكانية تآثرها بواسطة التهجين مع مسبار دنا نوعي موسوم.

إن التهجين المستعمري أو اللويحي (Plaque) هو الطريقة المفضلة التي يجري بواسطتها التعرف على نسائل محددة وتنقيتها. ولذلك تنمى الجراثيم في مستعمرات على أطباق من الآجار، ثم يتم وضع ورق ترشيح من النتروسيلولوز

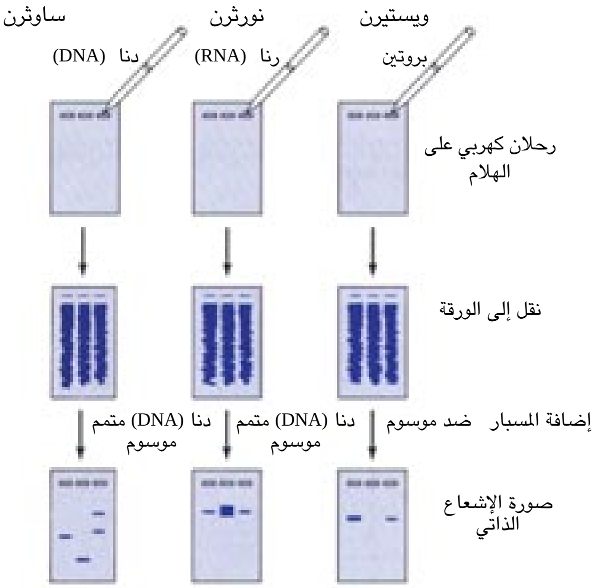
فوقها. وتلتصق خلايا من كل مستعمرة على ورقة الترشيح، ثم تستخدم الحرارة لتثبيتها بشكل دائم على الورقة. ويؤدي استعمال الحرارة والمعالجة بهيدروكسيد الصوديوم (NaOH) أيضاً إلى انحلال الخلايا وتمسيخ الدنا (DNA) مما يسمح بعملية التهجين مع المِسبار. وبعد ذلك، تجري إضافة المِسبار المشع إلى ورقة الترشيح؛ وبعد الغسل، يجري تحديد موضع المعقد الهجين بتعريض ورقة الترشيح لفيلم حساس للأشعة السينية. وعند مطابقة البقعة الظاهرة على فيلم الأشعة الذاتي مع مستعمرة معينة، يمكن التقاط هذه المستعمرة من اللويحة. ويمكن استخدام الطريقة نفسها للتعرف على الشدف في مكتبات العاثيات. ويؤدي تكرار هذه العملية إلى عزل النسائل (المستعمرة الجرثومية) أو لويحة العاثية.

إن كل طرائق التهجين المذكورة في هذا الباب تعتمد على خصائص ازدواج الأسس الدقيقة لطيقان الأحماض النووية المتتامة المشروحة آنفاً؛ ومن ثَمَّ فإن التوافق التام يقود إلى تهجين جيد يقاوم درجة الحرارة العالية خلال تفاعلات التهجين والغسل. ومثل هذه المعقدات سوف تتشكل بوجود تراكيز ملحية منخفضة. وأما المتوافقات الأقل اكتمالاً، فإنها لا تتحمل هذه الظروف المتطرفة (أي درجات الحرارة المرتفعة والتراكيز الملحية المنخفضة)؛ وبناء عليه، فإن التهجين قد لا يحدث أبداً، أو أنه يختل خلال الغسل. ولقد أصبح بالإمكان التحري عن فصائل الجينات، المتصفة ببعض درجات التشابه، من خلال تغيير الظروف الصارمة لمراحل التهجين والغسل. ويمكن استخدام المبدأ نفسه للقيام بالدراسات المقارنة لجين معين في الأنواع المختلفة.

تتوفر الآن طرائق يدوية وأخرى آلية لسَلْسَلة الدنا:

يمكن تحليل شدف جزيئات معينة من الدنا (DNA) تم الحصول عليها بوساطة تكنولوجيا الدنا المأشوب بحثاً عن تسلسل نوكليوتيداتها. وتعتمد هذه الطريقة على وجود عدد كبير من جزيئات الدنا (DNA) المتماثلة.

ويمكن تحقيق هذا الشرط بتنسيل الشُّدفة المستهدفة باستخدام الطرائق التي وصفت آنفاً.



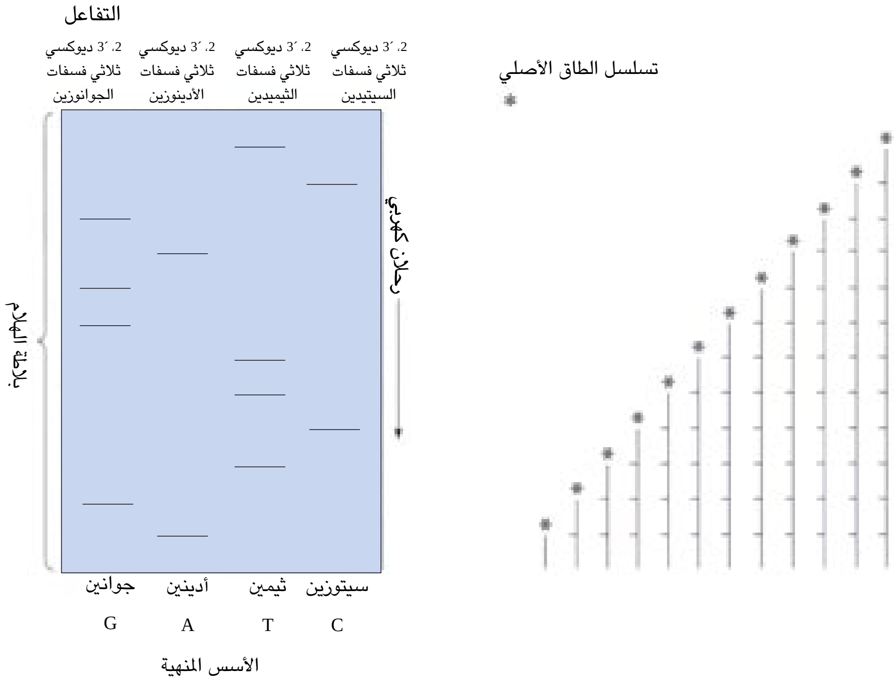
الشكل 42-5 : طريقة نقل اللطخة. في طريقة نقل لطخة ساوثرن أو الدنا (DNA)، يهضم الدنا (DNA) المعزول من سلالة خلوية أو نسيج بواسطة إنزيم اقتطاع واحد أو أكثر. ويوضع المزيج الحاصل في حفرة صغيرة في هلامة الأجاروز أو عديد الأكريلاميد، ويعرض لتيار كهربي مباشر. ويهاجر الدنا (DNA) المشحون سلباً نحو المصعد (Anode)؛ وتتحرك الشدف الصغيرة بسرعة أكبر. وبعد زمن مناسب، يمسخ الدنا (DNA) بالقلويات الخفيفة، وينقل إلى ورقة نتروسيلولوزية، بالنسخة المطابقة نفسها للنموذج على الهلام، وذلك بواسطة طريقة التلطيخ التي ابتدعها ساوثرن. ويطوع أو يثبت الدنا (DNA) إلى الورق بالتعريض إلى الحرارة، ثم يعرض الورق لِمسبار cDNA الموسوم، والذي يتهجن إلى شدفات تتميمية على الورقة. وبعد الغسل الشامل، يعرض الورق إلى فلم أشعة سينية خاص بإظهار الأشرطة النوعية المتعددة الموافقة لشدفة الدنا (DNA) التي تعرفت على المتواليات في مسبار cDNA. وتكون لطخة الرنا (RNA) أو نورثرن مماثلة بشكل كبير. ويخضع الرنا (RNA) للرحلان الكهربي قبل نقل اللطخة، وهذا ما يتطلب بعض الخطوات المختلفة عن تلك الخاصة بنقل الدنا (DNA) لضمان بقاء الرنا (RNA) سليماً بشكل رئيسي، وهذا أكثر صعوبة بوجه عام. وأما لطخة البروتين أو ويستيرن، فيجرى رحلان كهربي للبروتينات، وتنقل إلى ورقة نتروسيلولوزية، ثم تسبر بضد نوعي أو جزيئات مسبارية أخرى (النجمة تعني أن الجزيء موسوم شعاعياً).

وتستخدم الطريقة الإنزيمية اليدوية (طريقة سانجر Sanger's) نوعاً معيناً من النوكليوتيدات منزوعة الأكسجين في الموضعين 2´ و 3´، والتي تعمل على إنهاء تخليق طاق الدنا (DNA) عند نوكليوتيدات معينة من المرصاف النقي. وهذه التفاعلات يمكن ضبطها بحيث يمكن الحصول على تجمع كبير من شدف دنا (DNA) تنتهي عند كل نوكليوتيد على حدة. وبما أنه باستطاعتنا ربط واصم ذي نشاط إشعاعي عند الطرف النهائي الواقع مقابل موقع الإنهاء، لذلك يستطيع المرء عزل عدد من الشُّدَف حسب حجمها باستخدام الرحلان الكهربي على هلامة عديد الأكريلاميد، ثم نحصل على صورة الإشعاع الذاتي، وفيها تقوم كل شدفة بإظهار صورة (شريط) على فيلم الأشعة السينية. وتقرأ هذه الصور فيما بعد لكي تعطي تسلسل الدنا (DNA) (الشكل 42-6). وهناك طريقة يدوية أخرى تدعى طريقة ماكسام (Maxam) وجيلبرت (Gilbert)، تستخدم طرائق كيميائية لشطر جزيئات الدنا (DNA) عند المواضع التي تحتوي على النوكليوتيدات المحددة.

على العموم، أصبح من الشائع الآن استخدام الطرائق التي لا تتضمن عناصر مشعة لسلسلة الدنا (DNA) (تعيين تتابعه) بطريقة آلية. والطريقة الأكثر استعمالاً هي الطريقة التي تستخدم فيها أربع واصمات متألقة يمثل كل منها نوكليوتيداً مفرداً على حدة؛ وعند الإثارة بحزمة أشعة الليزر، يقوم كل واحد من هذه العناصر بإصدار إشارة خاصة يمكن رصدها على جهاز الحاسوب.

أصبح تخليق قلائل النوكليوتيد (Oligonucleotides) عملاً روتينيا الآن:

أصبح التخليق الكيميائي الآلي لقلائل نوكليوتيد بطول متوسط (نحو 100 نوكليوتيد) وذات تسلسل محدد بدقة عملاً مختبرياً روتينياً الآن. وتستغرق كل دورة تخليق عدة دقائق، ومن ثم يمكن صنع جزيء كامل بوساطة تصنيع شدف صغيرة نسبياً يمكن فيما بعد ربط بعضها إلى بعض. ولا يمكن الآن الاستغناء عن قلائل النوكليوتيدات في سَلْسَلَة الدنا (DNA) وتحري المكتبات ومقايسات انزياح حركية الدنا وتفاعل البوليميراز السلسلي [PCR] (انظر لاحقاً)، وعدد كبير آخر من التطبيقات.



الشكل 42-6 : تعيين تسلسل الدنا (DNA) بالطريقة المقترحة من قبل سانجر. تمثل المصفوفات الشبيهة بالدرج من الأسفل إلى الأعلى الشدف المتزايدة في الطول لطاق الدنا (DNA) الأصلي. وبمعرفة التفاعل النوعي للنوكليوتيدات 3´، 5´ – ديوكسي المُجرى لإنتاج كل مزيج من الشدف، يمكن تحديد تسلسل النوكليوتيدات من النهاية الموسومة (النجمة) نحو النهاية غير الموسومة بقراءة الهلامة. ويشمل تعيين التسلسل الآلي قراءة النوكليوتيدات منزوعة الأكسجين المُحَوَّرة كيميائياً. وتملي قوانين ازدواج الأسس لواطسون وكريك (A-T، G-C) تسلسل الطاق الآخر (التتميمي) (تدل النجوم على الوسم الشعاعي).

يعمل تفاعل البوليميراز السَلسلي (PCR) على تضخيم متواليات الدنا (DNA):

تفاعل البوليميراز السلسلي (PCR) هو طريقة تعمل على تضخيم سلسلة مستهدفة من الدنا (DNA). وهذا التفاعل يزودنا بوسائل حساسة منتقاة وسريعة للغاية لتضخيم تسلسل مرغوب به على الدنا (DNA)، وتقوم نوعية هذا التفاعل على أساس استخدام مَشْرَعَيْن (Primers) بإمكانهما أن يتهجنا مع تسلسلين متممين في جهتين متقابلتين من طاقي الدنا وتحصران بينهما التسلسل المستهدف والمراد تضخيمه (الشكل 42-7). ويجري تعريض العينة التي تحتوي على الدنا (DNA) أولاً إلى التسخين للعمل على فصل الطاقين، ثم يسمح للمَشْرَعَيْن بالارتباط بالدنا (DNA)، ويُنسخ كل طاق بوساطة بوليميراز الدنا، ابتداء من موقع المَشْرَع. ويقوم كل طاق من طيقان الدنا (DNA) بدور المرصاف من أجل تخليق دنا (DNA) جديد من المَشْرَعَيْن. وتؤدي الدورات المتكرِّرة من التمسخ بوساطة الحرارة وارتباط المَشْرَعَيْن إلى متوالياتها المتمِّمة، وتطويل هذين المَشْرَعَيْن بوساطة إنزيم بوليميراز الدنا، إلى تضخيم أسي لشدف الدنا (DNA) ذات الطول المحدد. واستخدم في بدايات هذه التقنية بوليميراز الدنا من الإشريكية القولونية (*E.coli*) والذي يتخرب مع كل دورة تمسيخ حراري. ولتجاوز هذه العقبة تم استبدال هذا الإنزيم فيما بعد بإنزيم بوليميراز دنا (DNA) مقاوم للحرارة مستخرج من المستحرات المائية المستوطنة (*Hermus aquaticus*) التي تتكاثر في درجة حرارة 70-80°مئوية؛ وقد سمح هذا بإجراء التفاعل بشكل آلي مما سمح بتحسين المحصول ونوعيته.

يمكن تضخيم متواليات الدنا (DNA)، قصيرة كانت (حتى 50-100 زوج من الأسس) أم طويلة (حتى 10 كيلو أساس). تزود عشرون دورة تضخيماً بمقدار 10^6، أما ثلاثون دورة فتزود بمقدار 10^9. ويسمح PCR بتضخيم الدنا (DNA) الموجود داخل خلية واحدة أو جريب شعرة أو خلية منوية وتحليله؛ لذا فإن التطبيقات العديدة لـ PCR في مجال الطب الشرعي واضحة. ويستخدم PCR أيضاً في:

(1) التحري عن العوامل الإعدائية، وخاصة الڤيروسات الكامنة.

(2) القيام بتشخيص الأمراض الوراثية قبل الولادة.

(3) التحري عن تعدد الأشكال الأليلية.

(4) تحديد الأنماط الدقيقة للأنسجة من أجل عمليات الزرع (الاغتراس) المختلفة.

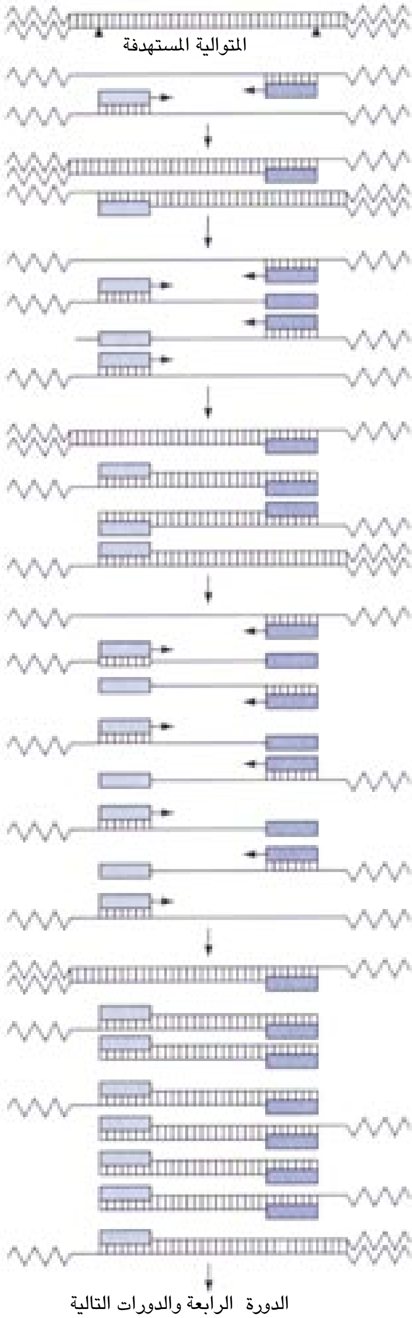
(5) دراسة التطور باستخدام الدنا (DNA) من عينات أثرية قديمة. ويساوي عدد تطبيقات PCR عدد المشكلات الموجودة في العلوم الأساسية، وسوف يكون هناك مواضع استخدام جديدة، تتطور كل عام.

هناك العديد من التطبيقات العملية لتكنولوجيا الدنا المأشوب:

يحتاج عزل جين معين من المجين الكامل إلى طريقة لها القدرة على تمييز جزء واحد من المليون. ويتطلب تمييز منطقة تنظيمية ما، والتي قد تكون بطول 10 أزواج من الأسس فقط، حساسية بمقدار جزء واحد من $10^8 \times 3$. أما تمييز مرض كفقر الدم المنجلي يتسبب به تغير أساس واحد (Single Base)، فيتطلب تمييز جزء واحد من $10^9 \times 3$. وتكنولوجيا الدنا المأشوب فعالة بما يكفي لتحقيق كل هذه الأشياء.

يحدد رسم الخريطة الجينية موقع جينات معينة على الصبغيات:

سوف يؤدي تحديد موقع الجين إلى رسم خريطة واضحة لمجين الإنسان مما يوفر معلومات مفيدة في التعريف بأمراضه. ويعد تهجين الخلايا الجسدية والتهجين في الموضع (In situ) طريقتين تستخدمان لإتمام هذا الأمر. وبالنسبة إلى التهجين في الموضع (أبسط الطرائق وأكثرها مباشرة)، فإنه تجري إضافة مسبار ذي فعالية إشعاعية إلى الصبغيات المنشورة على شريحة زجاجية في الطور التالي (Metaphase). ويتم تحديد المنطقة الدقيقة التي جرى فيها التهجين عند إضافة طبقة من مستحلب مادة التصوير فوق الشريحة الزجاجية؛ ثم ـ وبعد التعريض ـ تتشكل صفوف من الحبيبات التي لها خصائص تشريحية يمكن من خلالها التعرف على الصبغي. وهناك طريقة أخرى تستخدم لهذا الغرض، وهي على درجة عالية من الحساسية، تدعى التهجين المتألق في الموضع (FISH) وبإمكان هذه الطريقة تحديد موضع الجين في موقع محدد على منطقة ما أو شريط (Band) من الكروموسوم. وقد جرى إدراج بعض الجينات التي أمكن تحديد موقعها بهذه الطرائق في (الجدول 42-5).



الشكل 42-7: يستخدم تفاعل البوليميراز السلسلي في تضخيم متواليات جينية نوعية. يسخن الدنا (DNA) مضاعف الطاق لفصل طاقيه. وتربط هذه مَشْرَعَيْن متميزين يتجهان نحو متواليات نوعية على الطيقان المعاكسة، ويعينان الشدفة التي ستضخم. ويتم تطويل المَشْرَعين بواسطة بوليميراز الدنا(DNA) فينجم طاقان تتميميان للطاقين الأصليين، وتتكرر هذه الدورة عدة مرات، معطية ناتجاً مضخماً ذا طول وتسلسل محددين.

الجين	الكروموسوم	الداء
الإنسولين	11p15	
البرولاكتين	6p23-q12	
هرمون النمو	17q21-qter	عوز هرمون النمو
الجلوبين ألفا	16p12-pter	الثلاسيمية ألفا
الجلوبين بيتا	11p12	الثلاسيمية بيتا؛ الخلية المنجلية
نازعة أمين الأدينوزين	20q13-pter	بيلة الفينيل كيتون
هيدروكسيلاز الفينيل ألانين	12q24	متلازمة ليش ـ نيهان
ناقلة الفُسفوريبوزيل للهيبوزانثين والجوانين	Xq26-q27	
شدفة الدنا G8	4p	رقص هنتنجتون

الجدول 42-2 : مَوْضَعَة الجينات البشرية[1].

1- يشير هذا الجدول إلى توضع الكروموسوم لعدة جينات والأمراض المترافقة بإنتاج معوز أو شاذ لها. وقد أشير إلى الكروموسوم المُتَضَمِّن بالرقم أو الحرف الأول؛ أما الأرقامُ والأحرف الأخرى فتشير إلى المواضع الدقيقة.

يمثل هذا الجدول مجرد نموذج، لأنه قد جرى عمل خرائط لمئات الجينات. وسوف تصبح هذه الخرائط أكثر اكتمالاً في السنوات القادمة، وكذلك فإن هناك جهوداً قد قطعت شوطاً جيداً في سَلْسَلَة كامل المجين لدى الإنسان. ونستطيع الآن استنباط الاستنتاجات التالية: (1) يمكن للجينات التي تُرمِّز بروتينات متشابهة وظيفياً أن تتوضع على كروموسومات منفصلة (α و β جلوبين)؛ (2) ويمكن أيضاً للجينات التي تشكل جزءاً من فصيلة ما أن تتوضع على كروموسومات منفصلة (هرمون النمو والبرولاكتين)؛ (3) إن الجينات المساهمة في عدة اضطرابات موروثة، والتي عرف أن سببها هو عوز في بروتينات معينة وتتضمن الحالات المرتبطة بالكروموسوم X، قد أمكن في الحقيقة تحديد توضعها على مواقعها الخاصة.

والأكثر إثارة هو حقيقة أن تَوفّر شدف اقتطاع محددة وإمكانية تنسيلها سمح بتحديد الموقع الكروموسومي لأمراض عديدة من بينها رَقَص هنتنجتون (الكروموسوم 4) والتليف الكيسي (الكروموسوم 7) وداء الكلية عديدة الكيسات عند البالغين (الكروموسوم 16) وحثل دوشين العضلي (الكروموسوم X). وبمجرد تحديد الخلل في منطقة ما من الدنا (DNA) تحتوي على البنية المميزة لجين ما (الشكل 42-1)، فمن الممكن بناء جين صنعي يتم التعبير عنه في ناقل ملائم ثم تقويم وظيفته؛ أو يجري تخليق الببتيد المفترض (Putative) والذي يمكن استنتاج تسلسله من إطار القراءة المفتوح في منطقة الترميز. ويمكن استخدام أضداد موجهة ضد هذا الببتيد لتحديد ما إذا كان الأشخاص الأصحاء يعبرون عن هذا الببتيد، وكذلك ما إذا كان غائباً لدى الأشخاص المصابين بالخلل الوراثي. وقد عرضت التقنيات المختلفة المستخدمة لتحديد مواضع الجينات وإثبات علاقتها بالأدواء المختلفة في (الفصل 63).

أصبح بالإمكان إنتاج بروتينات للبحث والتشخيص:

إن الهدف العملي من أبحاث الدنا (DNA) المأشوب هو إنتاج مواد لاستعمالها في التطبيقات الطبية الحيوية. ولهذه الطريقة ميزتان مهمتان: (1) تستطيع التزويد بكميات كبيرة من المواد التي لا يمكن الحصول عليها بالطرائق التقليدية للتنقية (مثل الإنترفيرون وعامل تنشيط البلازمينوجين)؛ (2) وبإمكانها التزويد بمواد ذات منشأ بشري (مثل الإنسولين وهرمون النمو). والفوائد في كلتا الحالتين واضحة تماماً.

وبالرغم من أن الغاية الأساسية هي تأمين نواتج، غالباً ما تكون بروتينات، من أجل علاج (الإنسولين) وتشخيص (اختبار الإيدز AIDS) الأمراض البشرية والحيوانية، وكذلك للوقاية من الأمراض (لقاح التهاب الكبد B)، فإن هناك تطبيقات تجارية أخرى حقيقية وممكنة، وخاصة في مجال الزراعة. وكمثال على ذلك، نذكر محاولة هندسة النباتات لتصبح أكثر مقاومة للجفاف ودرجات الحرارة الحدِّية، أو لتملك قدرة أكبر على تثبيت النتروجين.

تستخدم تكنولوجيا الدنا المأشوب في التحليل الجزيئي للمرض:

1 – الاختلافات الجينية السوية: هناك اختلاف سوي في تسلسل الدنا (DNA) تماماً كما هي حال التنوع الواضح في سمات بنية الإنسان. وتحدث الاختلافات في تسلسل الدنا (DNA) (تعدد الأشكال Polymorphisms) مرة واحدة تقريباً في كل 500 نوكليوتيد، أو نحو 10^7 مرة في المجين الواحد. ويوجد هناك بلا شكٍّ خبن وغرز، وكذلك استبدالات فردية للأسس النتروجينية؛ فعند الأشخاص الأصحاء، تحصل هذه التغيرات ـ كما يبدو ـ في مناطق الدنا (DNA) غير المرمزة (Noncoding) أو في مواقع لا تسبب تغييراً في وظيفة البروتين المُرمَّز بها. ويمكن ربط تعدد الأشكال القابل للتوريث هذا في بنية الدنا (DNA) مع أمراض محددة ضمن مجموعة كبيرة من الأمراض؛ ويمكن فيما بعد استخدامه للبحث عن الجين المسؤول عنها، كما هو موضح لاحقاً. كما يمكن أيضاً استخدامه في تطبيقات متنوعة في الطب الشرعي.

2 – الاختلافات الجينية المسببة للمرض: لقد تعلمنا في علم الوراثة التقليدي أن معظم الأمراض الوراثية كان سببها طفرات نقطية تسفر عن بروتين معطل؛ وقد يبقى هذا صحيحاً؛ ولكن عند قراءة المقاطع الأولى من هذا الفصل يستطيع المرء التنبؤ بأن المرض الوراثي قد ينجم عن تعطيل أي من المراحل الموضحة في (الشكل 42-1)، ويكون عندها قد وصل إلى التقويم السليم.

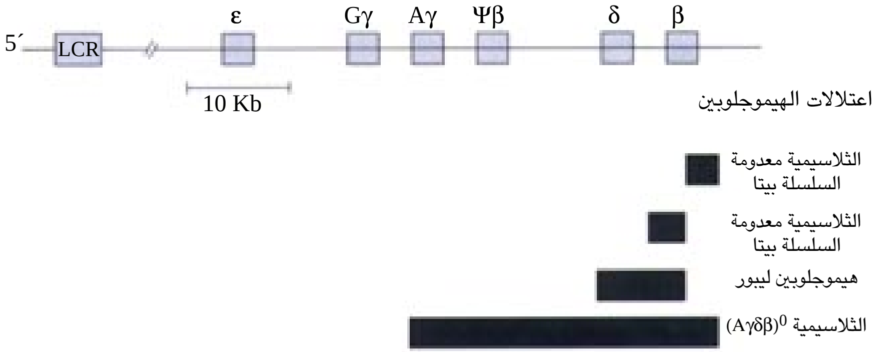
وتتضح هذه النقطة جلياً من خلال فحص جين الجلوبين ـ بيتا الموجود على الكروموسوم 11 (الشكل 42-8). رسمت نسخة موسعة من هذا الجين في (الشكل 42-9). يؤدي الإنتاج المعطوب للجلوبين ـ بيتا إلى حدوث أمراض متنوعة، وهذا يعود إلى وجود إصابات مختلفة داخل جين الجلوبين ـ بيتا أو حوله (الجدول 42-6).

3 – الطفرات النقطية (Point Mutations): إن المثال التقليدي عنها هو داء فقر الدم المنجلي الذي يسببه حدوث طفرة في أساس نتروجيني واحد من أصل 3×10^9 أساس موجودة في المجين، وهو إحلال A بدلاً من T في الدنا (DNA)، ومن ثم ينتج

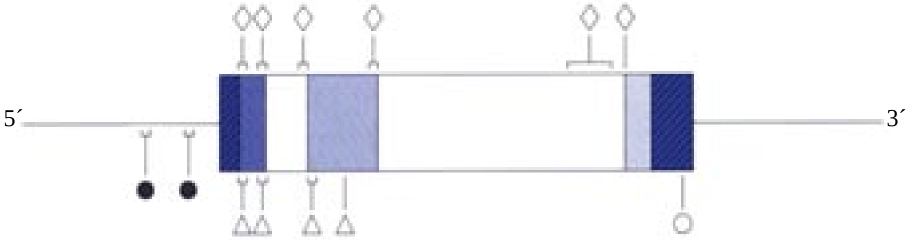
عن ذلك تغيير A إلى U في الرنا المرسال (mRNA) الموافق للرامزة السادسة في جين الجلوبين ـ بيتا (انظر الشكل 20-7). وتحدد الرامزة المتبدلة حمضاً أمينياً مختلفاً (الفالين بدلاً من حمض الجلوتاميك) مما يؤدي إلى خلل بنياني في جزيء الجلوبين – بيتا.

كما أن وجود طفرات نقطية أخرى داخل جين الجلوبين ـ بيتا وحوله يؤدي إلى نقص في إنتاج الجلوبين ـ بيتا أو انعدامه أحياناً، والثلاسيمية ـ بيتا هي نتاج هذه الطفرات (تتصف الثلاسيمية بوجود خطأ في تخليق وحيدات الهيموجلوبين، ومن ثَم تنتج الثلاسيمية بيتا β– (Thalassemia) عندما لا يكون هناك إنتاج كاف من الجلوبين ـ بيتا). ويبين (الشكل 42-9) أن الطفرات النقطية، والتي لها تأثير في كل عملية من العمليات العديدة المشاركة في إنتاج رنا مرسال (mRNA) سوي (ومن ثم بروتين سوي)، قد عدت سبباً للثلاسيمية ـ بيتا.

4 – الخبن والغرز والمُراتبة (Rearrangement) في الدنا: تظهر الدراسات على الجراثيم والفيروسات وذباب الفاكهة أنه يمكن لأجزاء من الدنا (DNA) الانتقال من موضع إلى آخر في المَجين ذاته. وقد يؤدي خبْن شدفة أساسية من الدنا (DNA) أو مُراتبته داخل الجين أو غرز شدفة ما داخل مناطق الترميز أو التنظيم إلى حدوث تغير في التعبير الجيني فيحدث المرض. ومرة أخرى، يعطي التحليل الجزيئي للثلاسيمية بيتا عدداً من الأمثلة على هذه العمليات المسببة للمرض، والخبْن منها على وجه الخصوص (الشكل 42-8). ويبدو أن جين الجلوبين مؤهب لهذه الأذية، فالخَبْن في عنقود جين الجلوبين ـ ألفا (الكروموسوم 16) يتسبب بحدوث الثلاسيمية ـ ألفا. ولقد وجد ارتباط عرقي قوي لهذه الحالات من الخبْن؛ فتظهر لدى الأوربيين الشماليين والفيليبينيين والسود وشعوب البحر الأبيض المتوسط أذيات مختلفة كلها تقود إلى غياب الهيموجلوبين A والثلاسيمية ـ ألفا.



الشكل 42-8 : مخطط ترسيمي لجين الجلوبين – بيتا وللآفات في بعض الاضطرابات الوراثية. ويتوضع جين الجلوبين على الكروموسوم 11 قريباً جداً من جينَيْ الجلوبين جاما وجين الجلوبين دلتا. ويكون تجمع الجين بيتا مرتباً بالترتيب 5´- ε- Gγ - Aγ -ψb - δ - β– 3´. ويجري التعبير عن الموضع إيبسلون ε في الحياة المضغية الباكرة $(a_2\varepsilon_2)$ وأما التعبير عن الجينات جاما فيكون في الحياة الجنينية، فيتشكل الهيموجلوبين الجيني $(HbF, \alpha_2\gamma_2)$ ويتألف الهيموجلوبين الكهلي من $HbA\ (\alpha_2\beta_2)$ أو $HbA_2\ (\alpha_2\delta_2)$. ويعد ζβ جيناً كاذباً يتصف بتسلسل متماثل مع بيتا، لكنه يحتوي على طفرات تمنع التعبير عنه. وتقوم منطقة التحكم بالموضع (LCR) الواقعة أعلى (5´) جين إيبسلون بالتحكم بمعدل انتساخ عنقود جين الجلوبين ـ بيتا الكامل. ويؤدي خَبْن (الشريط الغامق) الموضع بيتا إلى الثلاسيمية ـ بيتا (عوز (β^0) الجلوبين ـ بيتا أو غيابه). ويؤدي خَبْن دلتا وبيتا إلى إنتاج الهيموجلوبين ليبور (Lepore) (لا يكون إلا الهيموجلوبين ألفا موجوداً)؛ ويؤدي الانقلاب $(A\gamma\delta\beta^0)$ في هذه المنطقة (الشريط الملون) إلى الإخلال بوظيفة الجين، وإلى الثلاسيمية أيضاً (النمط الثالث). ويميل كل نمط من الثلاسيمية إلى الظهور في مجموعة معينة من الناس، فانقلاب الخَبْن $(A\gamma\delta\beta^0)$ مثلاً يحدث في الهنود. ولقد أمكن تعيين خريطة الكثير من حالات الخبن في هذه المنطقة، وكل منها يؤدي إلى نمط ما من الثلاسيمية.



الشكل 42-9: الطفرات في جين الجلوبين ـ بيتا والمؤدية إلى الثلاسيمية ـ بيتا. يَظْهَر جين الجلوبين ـ بيتا بالاتجاه ´5 و ´3. وتشير المناطق ذات الخطوط المائلة إلى المناطق غير المترجمة ´5 و ´3. وإذا قرأنا بالاتجاه ´5 و ´3، تدل المناطق المظللة على الإكسونات 1-3 والمناطق الفاتحة على الإنترونات 1 و 2. وتتوضع الطفرات التي تؤثر في التحكم بالانتساخ (•) في دنا (DNA) المنطقة الجانبية ´5. وقد جرت الإشارة إلى أمثلة عن الطفرات الخائبة (Δ) والطفرات في معالجة الرنا (RNA) (◊)وطفرات شطر الرنا (RNA) (O). وتوجد عدة طفرات في بعض المناطق؛ وقد أشير إليها بأقواس.

التغير	الوظيفة المتأثرة	المرض
طفرات نقطية	تطوي البروتين التحكم بالانتساخ الطفـرات الخـائبـة وطفـرات إزاحة الإطار معالجة الرنا (RNA)	داء الخلية المنجلية الثلاسيمية بيتا الثلاسيمية بيتا الثلاسيمية بيتا
خَبْن	إنتاج الرنا المرسال	الثلاسيمية بيتا هيموجلوبين ليبور
مراتبة	إنتاج الرنا المرسال	الثـلاسـيـمـيـة بيـتـا من النمط الثالث

الجدول 42-6 : التغيرات البنيوية في جين الجلوبين بيتا

يمكن القيام بتحليل مشابه للعديد من الأدواء الأخرى؛ فتحديد الطفرات النقطية يتم عادة من خلال سلسلة الجين المُشتَبَه به؛ أما إذا أحدثت الطفرة تخريباً في موقع اقتطاع ما أو ولدت آخر، فيمكن عندها استخدام تقنية تحليل شدف الاقتطاع (Restriction fragment analysis) لتحديد الآفة بدقة؛ وغالباً ما نكشف الخبْن أو الغرز ذا الطول الأكبر من 50 زوجاً من الأساس بواسطة تقنية نقل اللطخة لساوثرن.

5 – **تحليل شجرة النسب (Pedigree analysis)**: يزودنا فقر الدم المنجلي ثانية بمثال ممتاز عن كيفية تطبيق تكنولوجيا الدنا (DNA) المأشوب لدراسة الأمراض البشرية؛ فاستبدال الثيمين بالأدينين في الطاق المرصاف من دنا (DNA) جين الجلوبين ـ بيتا يؤدي إلى تغير تسلسل منطقة الرامزة السادسة من:

طاق الترميز C C T G A G G

طاق المرصاف G G A C (T) C C

إلى

طاق الترميز C C T G A G G

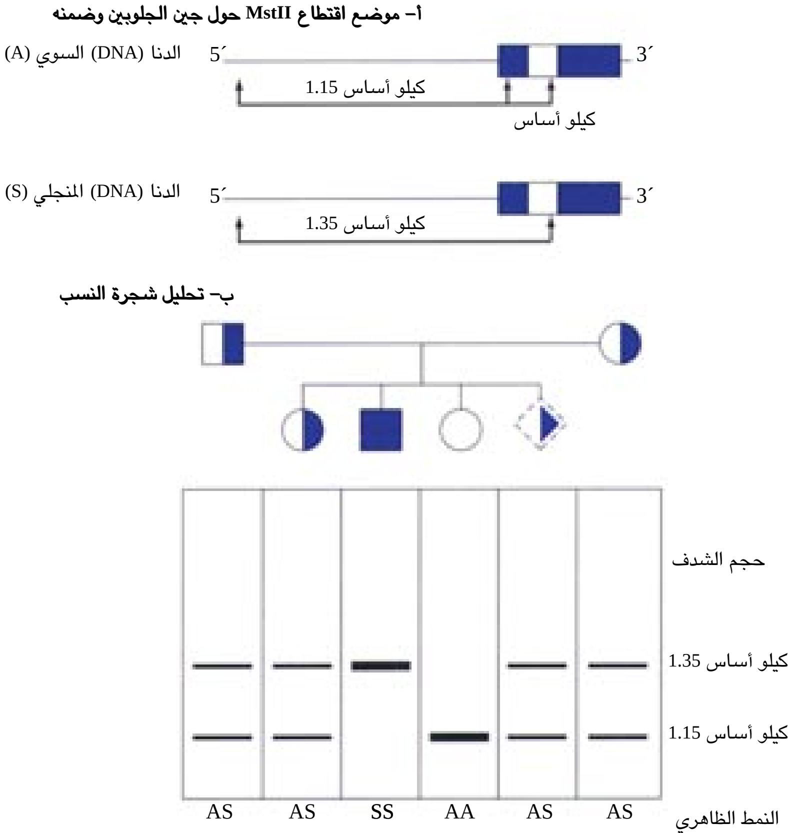
طاق المرصاف G G A C (A) C C

مما يخرب موقع تعرف لإنزيم الاقتطاع MstII (الأسهم؛ الجدول 42-2)، في حين تبقى مواقع الاقتطاع الأخرى الخاصة بهذا الإنزيم (في الجهتين 5´ و 3´ من الموقع السابق) سليمة، ويمكن قطع الدنا (DNA) عندها (الشكل 42-10). هذا يعني أن حضن الدنا (DNA) المأخوذ من شخص سوي (AA) وآخر متغاير الزيجوت (AS) وثالث متماثل الزيجوت (SS) مع إنزيم الاقتطاع المذكور سينتج ثلاثة نماذج مختلفة عند تطبيق تقنية لطخة ساوثرن (الشكل 42-10). ويوضح هذا إمكانية إثبات شجرة نسب (Pedigree) الدنا (DNA) باستخدام التقنيات المذكورة في هذا الفصل. وقد

طبق تحليل شجرة النسب على العديد من الأمراض الجينية، وأكثر ما يفيد في حالات الخبْن والغرز وفي الحالات النادرة التي يتأثر فيها مواقع اقتطاع ما (كما هو الحال في المثال المذكور في هذه الفقرة). وقد تيسر هذا التحليل أكثر بالمساعدة التي يقدمها تفاعل البوليميراز السّلسلي (PCR) الذي يوفر كميات من الدنا(DNA) كافية لهذه التقنية من مجرد بضع خلايا حمراء منوّاة.

6 – التشخيص قبل الولادة (Prenatal): وهذا ممكن فقط إذا فهمنا طبيعة الأذية وتوفر لدينا المِسبار المناسب. ومن الممكن تطبيق تقنية لطخة ساوثرن لتحليل الدنا (DNA) المستخلص من الخلايا المأخوذة مما لا يزيد عن 10 مل من السائل السلوي (أو من خزعة الزغابات المشيمائية)؛ والجنين الذي يعطي نموذج الاقتطاع AA (الشكل 42-10) ليس مصاباً بداء الخلية المنجلية ولا حاملاً له، أما النموذج SS فيشير إلى أن الداء سيتطور. ويتوفر الآن مسابر لدراسة العديد من الأمراض بهذه الطريقة.

7 – تعدد أشكال أطوال الشدف المقتطعة (الرِّفْلِب RFLP): يمكن أن تؤدي الاختلافات في تسلسل الدنا (DNA)– كما ذكر آنفاً ــ إلى تنوع في مواقع الاقتطاع، ومن ثم تؤدي إلى تنوع أطوال شدف الاقتطاع. ويعرف الاختلاف الموروث في نمط التقطيع (فمثلاً تحدث اختلافات في الدنا (DNA) عند أكثر من 1٪ من عامة البشر) باسم تعدد أشكال أطوال الشدف أو الرفلب (RFLP). ولقد جرى إنشاء خريطة رفلب (RFLP) مطولة نوعاً ما للمجين عند الإنسان. وأمكن التثبت من فائدتها في مشروع سَلْسَلَة المجين البشري، وهي أيضاً تشكل عنصراً مهماً في الجهود المبذولة لمحاولة فهم الأمراض الوراثية الناتجة عن جينات مفردة أو عديدة. وتنجم الرفلبات (RFLPs) عن تغيرات في أساس نتروجيني واحد (مثل فقر الدم المنجلي)، أو من خبن أو غرز في الدنا (DNA) داخل شدفة اقتطاع ما (مثل الثلاسيميّة). ولقد أثبتت أنها أداة تشخيصية مفيدة. وتوجد الرفلبات RFLPs في مواضع جينات معروفة وفي متواليات ليس لها وظيفة معروفة، ومن ثم فإنها قد تحدث خللاً في وظيفة الجين، أو قد لا تكون لها أية مضاعفات بيولوجية.



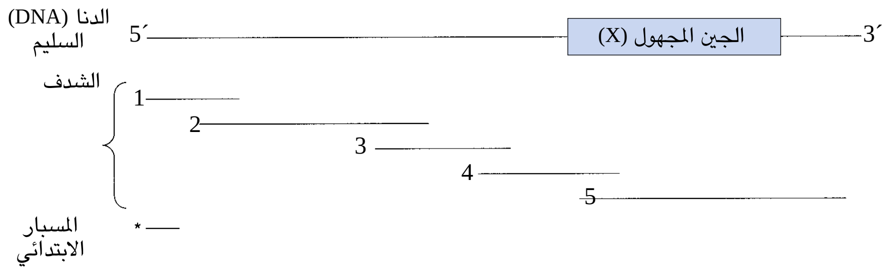
الشكل 42-10: تحليل شجرة النسب في داء الخلية المنجلية. يظهر الجزء العلوي (A) من الشكل الجزء الأول من جين الجلوبين ـ بيتا ومواضع الاقتطاع الإنزيم MstII بداخله في كل من الخلية السوية (A) والمنجلية (B) يولد الهضم بالإنزيم MstII عند الأسوياء شُدفَتَيْن من الدنا (DNA) بطول 1.15 و 0.2 كيلو أساس. أما في المصابين بفقر الدم المنجلي، فيؤدي تغير T إلى A عندهم إلى إلغاء أحد مواقع الاقتطاع الثلاث النوعية لهذا الإنزيم والموجودة حول جين الجلوبين ـ بيتا، وبالتالي فإن الهضم بواسطته سيولد عند هؤلاء المرضى شدفة واحدة بطول 1.35 كيلو أساس. ويمكن كشف هذا الاختلاف في الطول بطريقة لطخة ساوثرن (B) بسهولة. لاحظ أن الشدفة 0.2 كيلو أساس لا تظهر لأنها تتحرك وتخرج خارج الهلام خلال الرحلان الكهربي بسبب قصر طولها). يظهر تحليل شجرة النسب ثلاثة نماذج: AA= سوي (الدوائر الفاتحة)؛ AS= متغير الزيجوت (الدوائر نصف المطموسة، المربع نصف المطموس)؛ SS= متماثل الزيجوت (المربع المطموس). وتسمح هذه التقنية بتشخيص المرض قبل الولادة (المربع ذو الحواف المخططة والمثلث المطموس في اليمين).

والرفلبات (RFLPs) تورث حسب قوانين مندل. وأما الاستخدام الرئيسي لها (الآلاف منها أصبحت معروفة الآن) فهو في تعيين الأمراض الوراثية ذات النقص الوظيفي مجهول السبب. ويمكن استخدام الرفلبات (RFLPs) لتحديد مجموعات الارتباط، والتي بدورها ـ وباستخدام عملية مشي الكروموسوم (Chromosome walking) تمكن من تحديد موقع المرض. وفي عملية مشي الكروموسوم (الشكل 11-42)، يجري استخدام شدفة صغيرة تمثِّل نهايةَ طرف واحد من شدفة طويلة من الدنا (DNA) من أجل عزل شدفة صغيرة أخرى لتقوم بالتشابك مع الشدفة الأولى والعمل على مدها. وأما اتجاه الامتداد فإنه يتحدَّد بواسطة خريطة الاقتطاع ويجري تكرار هذه العملية بالتتالي حتى الحصول على التسلسل المطلوب. وتكون الأمراض المرتبطة مع الكروموسوم X على وجه الخصوص مرشَّحة لهذا الأسلوب، لأن أليلاً (Allele) واحداً هو الذي سيجري التعبير عنه؛ ولذلك فإن 20٪ من الرفلبات (RFLPs) المعروفة تقع على الكروموسوم X، وهناك خريطة ارتباط كاملة بشكل معقول لهذا الكروموسوم. ولقد جرى اكتشاف الجين المسؤول عن حثل دوشين العضلي ــ وهو من الأمراض المرتبطة مع الكروموسوم X– باستخدام الرفلبات (RFLPs). وبالطريقة نفسها أيضاً، جرى تحديد موقع الخطأ في مرض رقص هنتنجتون على المنطقة النهائية للذراع القصير من الكروموسوم 4، وكذلك فإن الخلل الذي يتسبب بمرض الكلية عديدة الكيسات يرتبط بموقع جين الجلوبين ألفا على الكروموسوم 16.

8 – تعدد أشكال الدنا (DNA) الميكروساتليّة: توجد وحدات تكرارية ترادفية قصيرة (2-6 أزواج من الأسس) قابلة للتوريث نحو 50-100,000 مرة في المجين البشري (الفصل 38). وبما أنها تظهر بشكل متواتر كثيراً، فهي تحل محل الرفلبات كمواضع واصمة في أبحاث المجين المختلفة (انظر الفصل 63 أيضاً).

9 – الرفلبات (RFLPs) و (الأعداد المختلفة للوحدات التكرارية المترادفة) القِنْترات (VNTRs) في الطب الشرعي: إن وحدات من أعداد مختلفة من التكرارات المترادفة (VNTRs) نوع شائع من «الغرز» الذي يؤدي إلى إنتاج رفلب RFLP واحد. ويمكن للقِنْترات (VNTRs) أن تورث، وفي هذه الحالة فإنها تكون ذات فائدة في اكتشاف الارتباط الجيني لمرض ما داخل العائلة أو شجرة النسب، أو أنها قد تكون مميزة

لشخص ما، ومن ثم فإنها تستخدم كبصمة جزيئية (Molecular fingerprint) لذلك الشخص.



الشكل 42-11: تكنولوجيا مشي الكروموسوم. علينا عزل الجين X من شدفة كبيرة من الدنا (DNA)، ولا نعلم موضعه بالضبط، لكننا نملك مسباراً (الخط البادئ بنجمة) موجهاً ضد شدفة من الدنا (DNA) تظهر عند النهاية 5´ في الرسم ومكتبة تضم مجموعة من الشدف المتداخلة. (وبغرض التبسيط رسمت خمس منها فقط). سيتهجن المِسبار الابتدائي مع النسائل الحاوية على الشدفة 1 فقط والتي يمكن عزلها لاحقاً واستخدامها كمِسبار لكشف الشدفة 2. وتكرر هذه العملية حتى تتهجن الشدفة 4 مع الشدفة 5 التي تحتوي على كامل تسلسل الجين X.

10 – المعالجة الجينية: قد تنصاع الأمراض المُسَبِّبة عن نقص ناتج جيني ما (الجدول 42-5) للمعالجة التعويضية. وتقوم استراتيجية هذه المعالجة على تنسيل جين (كالجين الذي يرمز إنزيم نازعة أمين الأدينوزين) داخل ناقل ليصبح من السهل فصله فيما بعد ودمجه في مَجين الخلية المضيفة. وتختَبَر الآن الخلايا السلفية لنقي العظم من أجل هذا الهدف، لأنه يُفترض أنها ستعاد إلى داخل النقي وتتكاثر هناك، وسيبدأ الجين الذي جرى إدخالُه بتوجيه التعبير عن ناتجه البروتيني. ويفترض أيضاً أن هذا سيقود إلى تصحيح العوز لهذا البروتين في الخلية المضيفة.

11 – الحيوانات نقيلة الجين (المُطَفَّرة: Transgenic): إن تعويض جين الخلية الجسدية ـ كما وصف أنفاً ـ لن يُمَرَّر بالتأكيد إلى الأجيال التالية أو الذرية. فاقترحت استراتيجيات أخرى لتغيير النسيلة الخلوية الجنسية لكن تجربتها

اقتصرت على حيوانات المختبر فقط. فهناك نسبة مئوية معينة من الجينات المحقونة داخل بويضة فأر مخصَّبة ستندمج داخل المَجين وسنجدها في كل الخلايا الجسدية والجنسية. ولقد تم الحصول على مئات من الحيوانات النقيلة وراثياً التي أثبتت فائدتها في دراسة تأثيرات النسج النوعية على التعبير الجيني، وتأثير زَيْد النواتج الجينية (كنواتج جين هرمون النمو أو المورثات الورمية أو السرطانية)، واكتشاف الجينات المشاركة في التطور، وهي العملية التي ما زالت دراستها صعبة حتى الآن. ولقد استخدمت هذه الطريقة حديثاً لتصويب العوز الوراثي لدى الفئران؛ فلقد جرى حقن بويضات ملقحة من الفئران المصابة وراثياً بقصور الغدد التناسلية (Hypogonadism) بشدفَة من الدنا (DNA) تحتوي على التسلسل المُرمِّز للسلف البروتيني للهرمون المُطلِق لموجهة الغدد التناسلية (GnRH)، وَوُجِد أنه تم التعبير عن هذا الجين وتنظيمه بصورة طبيعية في الوطاء في عدد محدود من الفئران الناتجة، وكانت هذه الحيوانات سوية من مختلف النواحي. كما أن الأجيال التالية لم تُبد أي دليل على عوز GnRH. وهذا دليل على تعبير الخلايا الجسدية عن الجين المنقول والحفاظ عليه في الخلايا الجنسية.

تمزيق الجين المستهدف أو تعطيله (Knockout):

في الحيوانات منقولة الجين، يقوم المرء بإضافة نسخة أو أكثر من جين واحد إلى المجين، ولا توجد أية طريقة لضبط الموضع الذي سيؤول إليه هذا الجين وأين سيستقر. ويتضمن الأسلوب المُكمل ـ والأصعب كثيراً ـ نزعاً انتقائياً لجين معيّن من المَجين. ونحصل على الحيوانات مُعَطَّلَةَ الجين (Gene knockout animals) (الفئران عادة) بإحداث طفرة تُحدث خللاً تاماً في وظيفة الجين؛ ثم يستعمل هذا الجين لإحلاله مكان جين واحد من أصل جينَين موجودين داخل خلية جذعية جنينيّة فنحصل على حيوان نقيل متغاير الزيجوت. وتؤدي المعاشرة الجنسية لزوج من هذه الحيوانات ـ حسب قوانين مندل الوراثية ـ إلى إنتاج طفرة متماثلة الزيجوت في 25٪ من الأبناء. ولقد أمكن تحضير عدة مئات من الفئران عُطِّلَت فيها جينات نوعية.

الخلاصة:

توجد الآن العديد من التقنيات ذات الحساسية العالية التي يمكن استخدامها لعزل الجينات وتحديد خصائصها وكمية نواتجها. والمفهوم الأساسي الذي يلعب الدور المركزي في هذه الطرائق هو أن أزواج الأسس المتتامة تستطيع تشكيل روابط هيدروجينية فيما بينها: A مع T و G مع C.

ولتنسيل الدنا (DNA)، يجرى نزع شدفة معينة من الدنا (DNA) من بيئتها الطبيعية باستخدام أحد إنزيمات نوكلياز الاقتطاع الداخلية العديدة، ثم تدمج هذه الشدفة في أحد النواقل حيث يتم تضخيمها وإنتاجها بكمية وفيرة. ومن السهل نسبياً عزل الدنا (DNA) المُنَسَّل وسلسلته واستخدامه كمِسبار في إحدى طرائق التهجين العديدة للتحري عن شدف دنا (DNA) أخرى متعلقة به أو مجاورة له، أو استخدامه لتحديد كمية نواتج الجين (الرنا المرسال mRNA مثلاً).

إن معاملة الدنا (DNA) لتغيير بنيته (وهذا ما يدعى الهندسة الوراثية) هو العنصر الرئيسي في عمليات التنسيل (إنشاء جزيئات هجينة أو خَيْمَرِيّة مثلاً)؛ ويمكن استخدامه أيضا من أجل دراسة وظيفة شدفة معينة من الدنا (DNA) والكيفية التي تنتظم بها الجينات. ويجري إدخال الجزيئات المهجنة إلى الخلايا لتصبح خلايا محورة (Transformed)، أو إلى داخل بيضات مخصبة لإنتاج حيوانات نقيلة وراثياً. ويمكن استخدام هذه الأساليب لدراسة عملية تنظيم الجينات في سياق الخلية الطبيعية، وكذلك من أجل تبديل الوظيفة الخلوية.

ويتم استخدام طرائق تتضمن دنا (DNA) منسلاً لتحديد موقع الجينات على مناطق معينة من الكروموسومات، وتعيين الجينات المسؤولة عن الأمراض، ودراسة كيف أن التنظيم الخاطئ للجين يتسبب في إحداث مرض، وتشخيص الأمراض الوراثية، ومعالجة الأمراض الوراثية.

مسرد بالمصطلحات الجديدة:

التسلسلات (المتواليات) ذاتية التنسخ (Autonomously replicating sequences) "ARS": منشأ التَّنسُّخ في الخميرة.

تصوير الإشعاع الذاتي (Autoradiography): اكتشاف الجزيئات ذات النشاط الإشعاعي: الدنا (DNA) أو الرنا (RNA)، أو البروتين ـ بإظهار تأثيرها على فيلم فوتوغرافي.

عاثية الجراثيم (Bacteriophage): ڤيروس يعمل على إعداء الجراثيم.

الدنا (DNA) ذو النهايات الكليلة (Blunt-ended DNA): طاقان من الدنا (DNA) المضاعف تقع نهاياتهما في السوية نفسها.

جزيء دنا متمم (cDNA): جزيء دنا (DNA) وحيد الطاق يكون متتامّاً مع جزيء الرنا المرسال (mRNA) الذي خلق منه بواسطة إنزيم المنتسخة العكسية.

الجزيء المهجن أو الخَيْمَري (Chimeric molecule): جزيء (كالدّنا (DNA) أو الرنا (RNA) أو البروتين) يحتوي على متواليات مشتقة من نوعين مختلفين.

النسيلة (Clone): عدد كبير من الخلايا أو الجزيئات المطابقة لخلية واحدة أبوية أو جزيء واحد أبوي.

الكوزميد(Cosmid): هو بلازميد غرزت فيه متواليات دنا (DNA) من عاثية الجراثيم لمدا ضرورية لرزم الدنا (DNA) في المواضع (cos)، وهذا يسمح لدنا (DNA) البلازميد بأن يرزم في الزجاج (المختبر).

النوكلياز الداخلية (Endonuclease): إنزيم يعمل على شطر الروابط الداخلية في الدنا (DNA) أو الرنا (RNA) .

نوكلياز الاستئصال [الاقتطاع] (Excinuclease): إنزيم نوكلياز استئصال يدخل في آلية إصلاح الدنا (DNA) القائمة على استبدال النوكليوتيدات.

الإكسون (Exon): تسلسل في جين ما يعبر عنه على شكل رنا مرسال (mRNA).

النوكليـاز الخـارجـيـة (Exonuclease): إنزيم يعـمل على شطر النوكليـوتيـدات من النهايات ´3 أو ´5 للدنا (DNA) أو الرنا (RNA).

تعيين بصمة الأصبع (Fingerprinting): استخدام الرفلبات (RFLPs) أو تسلسلات تكرارية من أجل تعيين طراز متميز لشُدف الدنا (DNA) خاص بشخص ما.

تعـيين بصـمـة القـدم (Footprinting): الدنا (DNA) المرتبط ببـروتين يقـاوم هضـم إنزيمات ديوكـسي الريبـونوكليـاز (الدناز DNase). وعند إجـراء تفـاعل السّلسلة باستخدام مثل هذا الدنا (DNA)، يمكن الكشف عن مساحة محمية تمثل بصمة قدم البروتين الرابط.

بنية دبوس الشعـر (Hairpin): امتداد حلزوني مضـاعف ناجم عن ازدواج الأسس بين متواليات متجاورة ومتتامة لطاق وحيد من الدنا (DNA) أو الرنا (RNA).

التـهجين (Hybridization): إعادة الارتبـاط النوعي لطيقـان متتامة من الأحماض النووية (دنا مع دنا أو رنا مع دنا أو رنا مع رنا).

المغروز (Insert): طول إضافي من أزواج الأسـاس في الدنا (DNA) يجري إدخالها بشكل عام بوساطة تكنولوجيا الدنا المأشوب.

الإنتـرون (Intron): تسلسل مـعين من الجين يتم انتـسـاخـه لكنه يسـتـأصل قـبل الترجمة.

المكتـبة (Library): مـجمـوعـة من الشـدف المُنسَّلة تمثل المَجين بأكمله. والمكتبـات نوعـان: مكتـبة الدنا (DNA) المَجيني (يكون كل من الإنترونات والإكسـونات ممثلين فيها) أو مكتبة الدنا المتمم (cDNA) (تحوي الإكسونات فقط).

الربط (Ligation): عملية الضم المُحَفَّزة إنزيمياً لشدفتين من الدنا (DNA) أو الرنا (RNA) تجعلهما شدفة واحدة. الرابطة المتشكلة هي الفُسفودَايسترية، والإنزيمات المحَفِّزة هي ليجاز (Ligase) الدنا أو ليجاز الرنا.

النسائل (Lines): متواليات طويلة متناثرة مكررة.

تعدد الأشكال الميكروساتلي (Microsatellite polymorphism): تغاير الزيجوت لمتوالية تكرارية ميكروساتليّة معينة في الشخص.

المتواليات التكرارية الميكروساتلية (Microsatellite repeat sequences): متواليات بطول 2-5 زوج من الأسس متكررة أقل من 50 مرة بشكل تجمعات أو متناثرة، وتوجد في 50-100 ألف موضع في المَجين.

ترجمة الصدعة (Nick translation): هي طريقة لوسم الدنا (DNA) تعتمد على مقدرة إنزيم بوليميراز الدنا (DNA) من الإشريكية القولونية على أن يدرك طاق الدنا (DNA) السابق صدعه ثم إعادة تخليقه من جديد، فإذا استعملت نوكليوزيدات فعالة إشعاعياً، فإن الطاق المعاد بناؤه سيصبح موسوماً ويمكن استخدامه كمِسبار ذي فعالية إشعاعية.

لطخة نورثرن (Northern blot) : طريقة لنقل الرنا (RNA) من هلام الأجاروز إلى ورقة ترشيح من النتروسيلولوز يمكن فيها الكشف عن الرنا (RNA) بوساطة مسبار ملائم.

قليل النوكليوتيد(Oligonucleotide): تسلسل قصير مميز من النوكليوتيدات ترتبط مع بعضها بروابط فُسفودَايسترية نموذجية.

الموضع Ori: منشأ التنسخ في طليعيات النوى.

السياق المتناظر(Palindrome): تسلسل من الدنا (DNA) مضاعف الطاق يكون هو نفسه عند قراءة الطاقين في اتجاهين متعاكسين.

البلازميد (Plasmid): جزيء صغير دائري من الدنا (DNA) يوجد خارج الكروموسوم ويتنسخ بشكل مستقل عن دنا (DNA) المضيف.

تفاعل البوليميراز السّلسلي (Polymerase chain reaction “PCR”): طريقة إنزيمية للنسخ المتكرر (ومن ثم التضخيم) لطاقَي الدنا (DNA) اللذين يشكلان تسلسلاً جينياً محدداً.

جسيم الشروع (Primosome): المعقد المتحرك المكون من الهيليكاز والبريماز (Primase) والذي يشارك في تنسُّخ الدنا (DNA).

المِسبار (Probe): جزيء يستخدم لكشف وجود شدفة معينة من الدنا (DNA) أو الرنا (RNA) داخل ـ على سبيل المثال ـ مستعمرة جرثومية من مكتبة جينية، أو خلال التحليل بتقنيات نقل اللطخة. ومن المَسابير الشائعة نذكر جزيئات الدنا (DNA) المتمم (cDNA) وقلائل الديوكسي ريبونوكليوتيدات المصنعة ذات التسلسل المعروف وأضداد بروتينات معينة.

الجين الكاذب (Pseudogene): جزء عاطل من الدنا (DNA) ينشأ عن طفرة حدثت في الجين الأصلي الفعال.

الدنا (DNA) المأشوب (Recombinant DNA): الدنا (DNA) المتبدل الناشئ عن غرز تسلسل ما من النوكليوتيدات منزوعة الأكسجين غير موجود سابقاً في جزيء من الدنا (DNA) بطرائق إنزيمية أو كيميائية.

إنزيم الاقتطاع (Restriction enzyme): ديوكسي نوكلياز داخلية (إنزيم) تسبب شطر كلا الطاقين من الدنا (DNA) في مواقع غاية في النوعية يمليها تسلسل الأسس.

الانتساخ العكسي (Reverse transcription) : تخليق الدنا (DNA) الموجه بالرنا (RNA)، ويُحَفَّز بإنزيم المنتسخة العكسية.

الإشارة (Signal): الناتج النهائي الملاحظ عندما يجرى الكشف عن تسلسل معين من الدنا (DNA) أو الرنا (RNA) بوساطة التصوير الشعاعي الذاتي، أو أي طريقة أخرى. ومن الشائع استخدام التهجين مع عديد نوكليوتيد متمم وفعال إشعاعياً (مثلاً بوساطة تلطيخ ساوثرن أو نورثرن) لتوليد هذه الإشارة.

متواليات الساين (SINEs): متواليات قصيرة مكررة متناثرة.

الرنا النووي الصغير (Small nuclear RNA "snRNA"): جزيئات من الرنا (RNA) موجودة في النواة عرفت جيداً لدورها في معالجة الرنا المرسال.

لطخة ساوثرن (Southern blot): طريقة لنقل الدنا (DNA) من هلام الأجاروز إلى ورقة ترشيح من النتروسيلولوز يمكن منها الكشف عن الدنا (DNA) بوساطة مسبار ملائم (مثال الدناDNA) المتمم أو الرنا (RNA).

لطخة ساوثويِسترن (Southwestern blot): طريقة لكشف تآثرات البروتين مع الدنا (DNA) بتطبيق مسبار موسوم من الدنا (DNA) على غشاء ناقل يحتوي بروتيناً أعيد إلى طبيعته (Renatured).

التضفير(Splicing): نزع الإنترونات من جزيء الرنا (RNA) وربط إكسوناته في الوقت نفسه.

جسيم التضفير (Splicosome): المعقد الجزيئي الكبروي المسؤول عن تضفير طليعة الرنا المرسال، ويتألف من خمسة جزيئات من الرنا النووي الصغير (snRNA) على الأقل (U1و U2و U4و U5و U6) ومن عدة بروتينات.

الدنا ذو النهايات اللصوقة (Sticky-ended DNA): طيقان مفردة متتامة من الدنا (DNA) تبرز من النهايات المتعاكسة للدنا (DNA) المضاعف أو من نهايات جزيئات مزدوجة مختلفة (انظر الدنا (DNA) ذي النهايات الكليلة أعلاه).

الترادف (Tandem): يصف هذا المصطلح النسخ العديدة والمتجاورة من التسلسل نفسه (مثال الدنا(DNA)).

الناقلة المطرافية (النهائية) (Terminal transferase): الإنزيم الذي يضيف نوكليوتيدات من نوع واحد (ثمالات ديوكسي الأدينوزين مثلاً) إلى النهاية 3´ من طيقان الدنا (DNA).

الانتساخ (Transcription): تخليق الرنا (RNA) الموجه بالدنا (DNA).

عابر الجين (Transgenic): يصف هذا التعبير إدخال دنا (DNA) جديد إلى الخلايا الجنسية بحقنه داخل نواة البيضة.

الترجمة (Translation): تخليق البروتين باستخدام الرنا المرسال كمرصاف.

النواقل (Vectors): بلازميدات أو عاثيات جراثيم يمكن إدخال دنا (DNA) غريب فيها بقصد التنسيل.

*** References:**

Lewin B : *Genes VI*. Oxford Univ. Press, 1998.

Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T: *Molecular Cloning : A laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

Martin JB, Gusella JF: Huntington’s disease: Pathogenesis and management. *N Engl J Med* 1986; 315; 1267.

Sbector DL, Goldman RD, Lenwand LA: *Cell: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1998.

Watson JD et al: *Recombinant DNA*, 2nd ed. Scientific American Books, Freeman, 1992.

Weatherall DJ: *The New Genetics Practice*, 3rd ed. Oxford Univ. Press, 1991.

الباب الخامس

الكيمياء الحيوية للاتصال خارج الخلوي وداخل الخلوي

Biochemistry of Extracellular & Intracellular Communication

الفصل الثالث والأربعون

الأغشية: البنية والتجميع والوظيفة

Membranes; Structure, Assembly, and Function

مقدمة:

الأغشية هي بنى ذات لزوجة عالية أكثر من اللدائن (البلاستيك). وتشكل الأغشية البلازمية أحيازاً (جوبات: Compartments) مغلقة حول البروتوبلازما (Protoblasma: الجبلة الخلوية)، بحيث تفصل بين خلية وأخرى، وبذلك تتحقق الاستقلالية لكل خلية على حدة.

يتمتع الغشاء البلازمي بنفوذيات انتقائية، وهو يعمل كحائل (Barrier)، فيحافظ بذلك على الاختلافات في التركيب بين داخل الخلية وخارجها. وتتحقق النفوذيات الانتقائية عن طريق قنوات (Channels) ومضخات (Pumps) للأيونات (Ions) وللركائز، وعن طريق مستقبلات (Receptors) نوعية خاصة بالإشارات مثل الهرمونات. وتقوم الأغشية البلازمية أيضاً بتبادل المواد مع الوسط خارج الخلايا بوساطة الإيماس (الالتفاظ: Exocytosis: أي قذف الخلية لمحتوياتها، والالتقام Endocytosis)، كما توجد مناطق خاصة في البنى الغشائية هي الموصلات الفجوية (Gap junctions)، التي يتم من خلالها تبادل المواد بين الخلايا المتجاورة. وتشكل الأغشية كذلك جوبات متخصصة ضمن الخلية؛ حيث تشكل هذه الأغشية داخل الخلوية العديد من البنى المتميزة شكلياً (العُضَّيات) مثل المتقدرات (mt) والشبكة

الهيولية الباطنية (ER) والشبكة الهيولية العضلية ومعقدات جولجي والحبيبات الإفرازية والجسيمات الحالة والغشاء النووي. وتؤمن الأغشية مواضع خاصة للإنزيمات، التي تعمل كعناصر متممة في اقتران الاستثارة بالاستجابة، وتخصص أيضاً مقرات لتنبيغ (Transduction) الطاقة، كما هو الحال في التركيب الضوئي والفسفتة التأكسدية.

الأهمية الطبية البيولوجية:

يمكن أن تؤثر التبدلات الصريحة التي تطرأ على بنية الغشاء في توازن الماء ودخول الأيونات، وبالتالي في كل العمليات داخل الخلية. تؤدي حالات العوز النوعية أو التبدلات المعينة في بعض المكونات الغشائية إلى أمراض متنوعة (انظر الجدول 43-14). تعتمد الوظيفة السوية للخلية على الأغشية السوية.

إن المحافظة على بيئة سوية داخل الخلية وخارجها أمر أساسي للحياة:

نشأت الحياة في بيئة مائية، لذلك فقد تطورت التفاعلات الإنزيمية والعمليات الخلوية ودون الخلوية وغيرها لكي تعمل في هذا الوسط. ونظراً لأن معظم الثدييات يعيش في بيئة غازية، فكيف يجري إذاً الحفاظ على الحالة المائية؟ تحقق الأغشية ذلك عن طريق استبطان (Internalizing) ماء الجسم وتحاوزه.

يكون الماء داخل الجسم متحاوزاً:

يشكل الماء 60 ٪ تقريباً من كتلة الجسم الرطبة عند الإنسان (الفصلان 2 و 3)، وهو متوزع في حيزين كبيرين:

* السائل داخل الخلوي (Intracellular Fluid;ICF): ويؤلف هذا الحيز ثلثي الماء الكلي، وهو يؤمن الوسط الذي تستخدمه الخلية في (1) صنع الطاقة وتخزينها واستعمالها؛ و (2) ترميم نفسها؛ و (3) التضاعف و (4) إنجاز وظائف معينة.

* السائل خارج الخلوي (Extracellular Fluid;ECF): ويحوي هذا الحيز ثلث الماء الكلي تقريباً، وهو متوزع بين البلازما والأحياز الخلالية (Interstitial) ويعد السائل خارج الخلوي جملة توزيع، فهو يُحضر المغذيات (Nutrients) للخلايا (مثل الجلوكوز والأحماض الدهنية والأحماض الأمينية)، والأكسجين والأيونات المتنوعة والعناصر المعدنية الزهيدة، وأنواع مختلفة من الجزيئات المنظمة (هرمونات) التي تنسق وظائف الخلايا المنفصلة بشكل واسع عن بعضها بعضاً، كما يقوم السائل خارج الخلوي بإزالة CO_2 والنواتج الزائدة والمواد السامة أو المنزوعة السمية من الوسط المحيط بالخلية.

يختلف التركيب الأيوني للسوائل داخل وخارج الخلوية بشكل كبير:

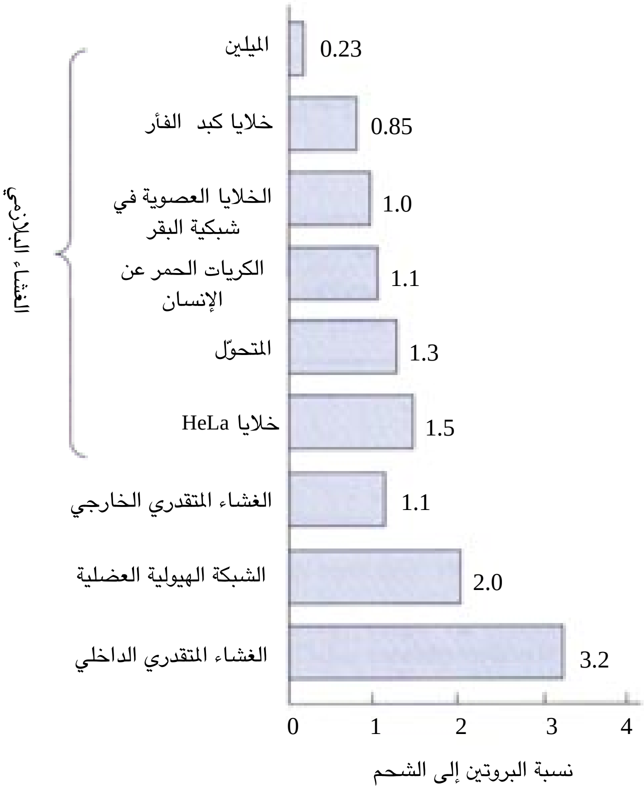
كما هو موضح في الجدول 34-1، يكون الوسط الداخلي غنياً بأيونات K^+ و Mg^{+2}، أما الفسفات فهي الأنيون (الصاعدة) الرئيسي فيه. ويتميز السائل خارج الخلوي بمحتوى عال من Na^+ و Ca^{+2}، ويكون Cl^- الأنيون الرئيسي فيه. ويلاحظ أيضاً أن الجلوكوز يكون أعلى في السائل خارج الخلوي من ما هو عليه ضمن الخلية، والعكس صحيح بالنسبة للبروتينات. والسؤال هنا لماذا يوجد مثل هذا الاختلاف؟ يعتقد أن البحر الأولي الذي نشأت فيه الحياة كان غنياً بكل من K^+ و Mg^{2+}. لذلك فلقد تطورت التفاعلات الإنزيمية والعمليات الحيوية الأخرى بحيث أصبحت تقوم بوظائفها بشكل أفضل في ذلك الوسط، ولهذا نجد تركيزاً مرتفعاً من هذه الإيونات داخل الخلايا. وكانت الخلايا في مواجهة ضغط انتقائي محكم عندما تبدلت تركيبة البحر بالتدريج لتصبح غنية بكل من Na^+ و Ca^{+2}. وكان لا بد من حدوث تغيرات واسعة لتطوير مجموعة جديدة تماماً من الآليات الفيزيولوجية والكيميائية الحيوية ـ الأغشية مع مضخات مرتبطة فيها ـ الكفيلة بالمحافظة على الوسط الداخلي الصغري.

المادة	السائل خارج الخلوي	السائل داخل الخلوي
Na^{+}	140 ممول/ل	10 ممول/ل
K^{+}	4 ممول/ل	140 ممول/ل
Ca^{+2} (الحر)	2.5 ممول/ل	0.1 ممول/ل
Mg^{+2}	1.5 ممول/ل	30 ممول/ل
Cl^{-}	100 ممول/ل	4 ممول/ل
HCO_3^{-}	27 ممول/ل	10 ممول/ل
PO_4^{3-}	2 ممول/ل	60 ممول/ل
جلوكوز	5.5 ممول/ل	1-0 ممول/ل
بروتين	2 جم/د.ل	16 جم/د.ل

الجدول 43-1 : مقارنة التراكيز الوسطية لمختلف الجزيئات داخل الخلية وخارجها عند الثدييات

الأغشية هي بنى معقدة تتكون من الشحميات والبروتينات والسكريات:

يختلف تركيب الأغشية باختلاف مكانها في الخلية الواحدة وبين أنواع الخلايا، ويعكس هذا بنسبة البروتين إلى الشحم كما هو موضح في (الشكل 43-1). ويكون هذا الاختلاف غير ملفت للانتباه إذا أخذنا في الحسبان الوظائف المختلفة جداً للأغشية. والأغشية بنى مغلقة شبيهة بالصفائح، ولا متناظرة وذات سطحين خارجي وداخلي. وتكون هذه البنى الشبيهة بالصفائح على شكل تجمعات غير تساهمية، وهي تكون ثابتة ثرموديناميكياً ونشيطة أيضياً. كما ترتبط بالأغشية جزيئات بروتينية نوعية تقوم بوظائف نوعية للعضي أو للخلية أو للكائن الحي.



الشكل 43-1: نسبة البروتين إلى الشحم في الأغشية المختلفة. تساوي البروتينات أو تتجاوز كمية الشحميات في كل الأغشية تقريباً. والاستثناء البارز هو الميلين (النخاعين)، وهو عازل كهربائي يوجد على العديد من الألياف العصبية.

الشحميات الرئيسية في أغشية خلايا الثدييات هي الشحميات الفسفورية والشحميات السفنجولية السكرية والكوليسترول:

1 – الشحميات الفسفورية: من بين صفي الشحميات الفسفورية الرئيسيين الموجودين في الأغشية، تكون الجليسريدات الفسفورية (Phosphoglycerides) هي

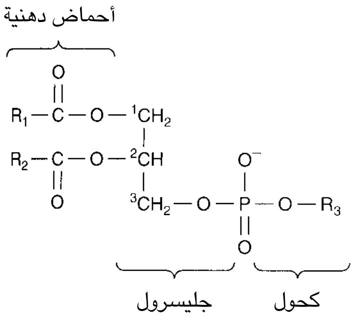
الأكثر شيوعاً في الأغشية، وتتكون من هيكل جليسرولي مرتبط به حمضان دهنيان برابطة أسترية، وكحول مفسفت (الشكل 43-2). وتكون الأحماض الدهنية المكونة عادةً جزيئات فيها عدد مزدوج من ذرات الكربون حيث أكثرها شيوعاً هي تلك الحاوية 16 أو 18 ذرة كربون. وهي غير متفرعة ويمكن أن تكون مشبعة أو لامشبعة. ويعد حمض الفسفاتيد أبسط جليسريد فسفوري، وهو 2، 1– ثنائي أسيل جليسرول 3– فسفات، وهو متوسط أساسي في تشكيل جميع الشحميات الفسفورية الأخرى (الفصل 26). وتكون الزمرة 3– فسفات في الشحميات الفسفورية الأخرى مؤسترة إلى كحول مثل الإيثانولامين أو الكولين أو السيرين أو الجليسرول أو الإينوزيتول (الفصل 16).

يتألف الصف الثاني من الشحميات الفسفورية من السفنجوميلينات (Sphingomyelins) الذي يحوي هيكل السفنجوزين عوضاً عن الجليسرول، بالإضافة إلى حمض دهني مرتبط بوساطة رابطة أميدية إلى الزمرة الأمينية في السفنجوزين. وتؤستر زمرة الهيدروكسيل الأولية في السفنجوزين إلى فسفوريل الكولين. وتسود السفنجوميلينات، كما هو واضح من تسميتها، في الأغماد الميلينية (النخاعينية).

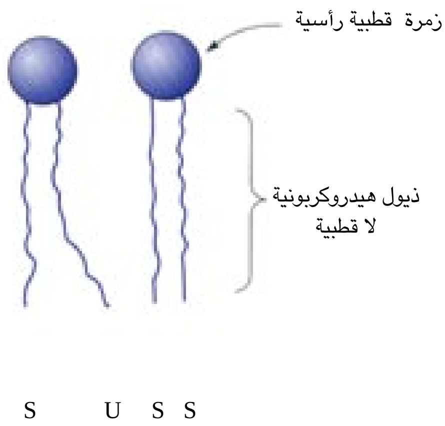
2 – الشحميات السفنجولية السكرية: وهي شحميات تحوي سكريات، مثل السيريبروزيدات (Cerebrosides) والجنجليوزيدات (Gangliosides)، وهي مشتقة أيضاً من السفنجوزين. وتختلف السيريبروزيدات والجنجليوزيدات عن السفنجوميلين بالجزء المرتبط مع زمرة الهيدروكسيل الأولية في السفنجوزين. ففي السفنجوميلين يكون فسفوريل الكولين مرتبطاً بالزمرة الكحولية، في حين يكون هذا الجزء في السيريبروزيد هكسوزاً مفرداً أو جلوكوزاً أو جالاكتوزاً. أما الجنجليوزيد فيحوي سلسلة مؤلفة من 3 سكاكر أو أكثر ـ واحد منها على الأقل يكون حمض السياليك – مرتبطة إلى الكحول الأولي في السفنجوزين.

3 – الستيرولات (Sterols): وأكثرها شيوعاً في الأغشية هو الكوليسترول، الذي يوجد على وجه الحصر تقريباً في الأغشية البلازمية للخلايا عند الثدييات، لكن يمكن أن يوجد أيضاً بكمية أقل في المتقدرات ومعقدات جولجي والأغشية النووية. وتزداد غزارة الكوليسترول عموماً كلما اتجهنا نحو خارج الغشاء البلازمي. ويندس

الكوليسترول بين الشحميات الفسفورية في الغشاء، وتبقى زمرته الهيدروكسيلية عند السطح المائي الفاصل وبقية الجزيء ضمن الوريقة. وسنناقش لاحقاً تأثيره في سائلية الأغشية.



الشكل 43-2 : فسفوجليسريد يبين الأحماض الدهنية (R_1 و R_2)، والجليسرول والمكونات الكحولية المفسفتة. إن R_3 في حمض الفسفاتيد هي الهيدروجين.



الشكل 43-3 : مخطط يوضح شحماً فسفورياً أو شحماً غشائياً آخر. تكون الزمرة الرأسية القطبية محبة للماء، أما الذيول الهيدروكربونية فهي كارهة للماء أو أليفة للشحم. وتكون الأحماض الدهنية في الذيول مشبعة (S) أو غير مشبعة (U)؛ حيث ترتبط الأولى عادة بالكربون 1 من الجليسرول والثانية بالكربون 2 منه.

تكون الشحميات الغشائية متقابلة الزمر (أمفيباتية) (Amphipathic):

تحوي جميع الشحميات الرئيسية في الأغشية مناطق كارهة للماء وأخرى محبة للماء، لذلك فهي تسمى متقابلة الزمر (أمفيباتية: Amphipathic). وبالتالي فالأغشية هي بحد ذاتها متقابلة الزمر. وإذا كانت المناطق الكارهة للماء مفصولة عن باقي الجزيء، فهذه تكون غير ذوابة في الماء لكنها ذوابة في الزيت. وعلى العكس من ذلك، إذا كانت المنطقة المحبة للماء مفصولة عن باقي الجزيء، فستكون غير ذوابة في الزيت لكنها ذوابة في الماء. وتمتلك الشحميات الغشائية متقابلة الزمر زمرة رأسية قطبية وذيولا غير قطبية، كما هو موضح (بالشكل 43-3). فالأحماض الدهنية المشبعة فيها ذيول مستقيمة، أما الأحماض الدهنية اللامشبعة، والتي بشكل عام توجد في الأغشية بالشكل المقرون، فيكون فيها ذيول ملتوية. وكلما ازدادت الالتواءات في الذيول، كلما أصبح الغشاء أقل حشواً وترابطاً وبالتالي أكثر سائلية. وتعد المنظفات (Detergents) جزيئات متقابلة الزمر مهمة في الكيمياء الحيوية وفي المنزل على حد سواء. ولا تختلف البنية الجزيئية لمنظف ما عن الشحم الفسفوري. وتستخدم بعض المنظفات بشكل واسع لإذابة البروتينات الغشائية كخطوة أولى في عملية تنقيتها. وترتبط النهاية الكارهة للماء في المنظف بالمناطق الكارهة للماء في البروتينات، مزيحة بذلك أغلب الشحميات المرتبطة بها. وتكون النهاية القطبية للمنظف حرة وهي تَجْلب البروتينات إلى المحلول (بعد أن تذيبه) على شكل معقدات بروتين ـ منظف، والتي تحوي عادةً بعض الثمالات الشحمية أيضاً.

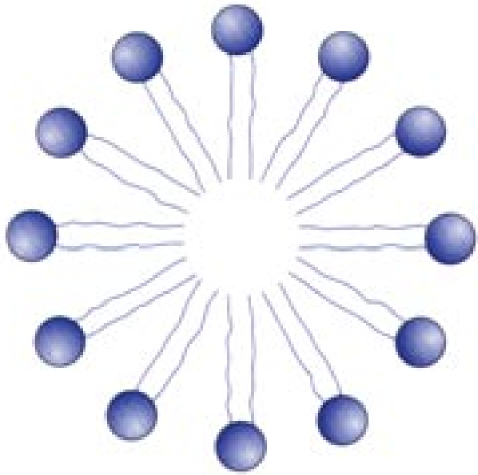
تشكل الشحميات الغشائية طبقات مضاعفة:

تفترض صفة تقابل الزمر بالشحميات الفسفورية بأن منطقتي الجزيء تتميزان بذوبان غير متماثل، ومع هذا، ففي مذيب ما كالماء، تُنظم الشحميات الفسفورية نفسها في شكل يوافق من الناحية الثرموديناميكية كلتا المنطقتين. وتكون بنية المذيلة (Micelle) (الشكل 43-4) على هذا الشكل؛ المناطق الكارهة للماء تكون بعيدة عن الماء، في حين تكون الزمر القطبية المحبة للماء مغموسة في الوسط المائي. وعلى أية حال، وكما كان معروفاً قبل نحو 60 عاماً من قبل جورتر (Gorter) وجريندل

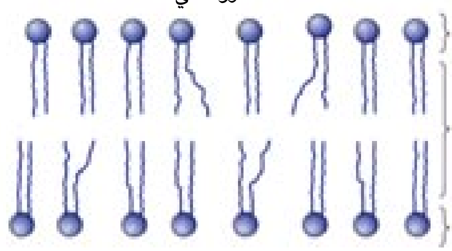
(Grendel)، يمكن للطبقة ثنائية الجزيء أو الطبقة المضاعفة أن تناسب أيضاً احتياجات قوانين الثرموديناميكا في الجزيئات متقابلة الزمر بالوسط المائي. وتكون الطبقات المضاعفة (Bilayers) (الثنائية)، وليست المذيلات، هي البنى الأساسية في الأغشية الحيوية. وتوجد الطبقة المضاعفة كصفيحة، تكون فيها مناطق الشحميات الفسفورية الكارهة للماء محمية من الوسط المائي، أما المناطق المحبة للماء فتكون منغمسة في الماء (الشكل 43-3). وتكون نهايات أو حواف الصفيحة ثنائية الطبقة هي فقط المعرضة لوسط غير ملائم، لكن حتى هذه الحواف المعرضة يمكن حمايتها بإبعادها عن هذا الوسط عن طريق طي الصفيحة للخلف وحول نفسها ليتشكل بذلك حويصل مغلق من دون حواف. وتمنح الطبقة المضاعفة المنغلقة واحدة من الخصائص الأساسية للأغشية، هي أنها غير نفوذة لأغلب الجزيئات الذوابة في الماء، لأنها غير ذوابة في لب الطبقة المضاعفة الكاره للماء.

وهنا يبرز على الفور سؤالان. الأول: كيف تكون معظم المواد الحيوية ذوابة في الدهون وتستطيع بذلك أن تدخل إلى الخلية بسهولة؟ إن الغازات مثل الأكسجين و CO_2 والنتروجين جزيئات صغيرة تتآثر بشكل ضعيف مع المذيبات، وتنتشر بسهولة خلال المناطق الكارهة للماء في الغشاء. أما الجزيئات المشتقة من الشحميات، مثل الهرمونات الستيرويدية، فهي فتعبر الطبقة المضاعفة بسرعة. وتبدي الجزيئات العضوية غير الكهرلية سرعات انتشار معتمدة على معاملات تقاسمها بالطورين المائي والزيتي (الشكل 43-6)؛ فكلما ازدادت ذؤوبية (قابلية ذوبان) الجزيء في الدهون، كلما ازدادت سرعة انتشارها عبر الغشاء.

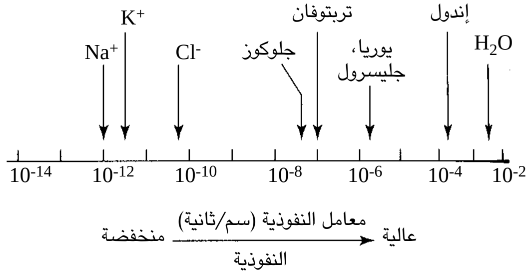
ويتعلق السؤال الثاني بالجزيئات غير الذوابة في الدهون: كيف يتم المحافظة على مدروجات التركيز عبر الغشائي للجزيئات غير الذوابة في الدهون؟ والجواب هو أن الأغشية تحوي البروتينات، والبروتينات هي جزيئات متقابلة الزمر أيضاً وهي تستطيع الانغراس بشكل ملائم ضمن الطبقة المضاعفة الشحمية متقابلة الزمر. وتشكل البروتينات قنوات لتتحرك الأيونات والجزيئات الصغيرة فيها، وتعمل البروتينات كنواقل للجزيئات الأكبر التي لا يُمكنها من دون ذلك عبور الطبقة المضاعفة. وستُناقش هذه العمليات لاحقاً.



الشكل 43-4 : مقطع عرضي تخطيطي للمذيلة. تكون الزمر الرأسية القطبية مغموسة في الماء، في حين تكون الذيول الهيدروكربونية الكارهة للماء محاطة بهيدروكربونات أخرى وبذلك تكون محمية من الماء وتكون للمذيلات بنى كروية الشكل.



الشكل 43-5 : رسم تخطيطي لمقطع بغشاء ثنائي الطبقة متشكل من جزيئات شحمية فسفورية. تكون ذيول الأحماض الدهنية اللامشبعة ملتوية، وتؤدي بذلك لوجود فراغات أكبر بين الزمر القطبية الرأسية، وبالتالي إلى مجال أوسع من الحركة.



الشكل 6-43 : معاملات نفوذية الماء وبعض الأيونات وجزيئات صغيرة أخرى في الأغشية ثنائية الطبقة الشحمية. يقال عن الجزيئات التي تتحرك بسرعة خلال غشاء معين إنها ذات معامل نفوذية عال.

تكون البروتينات الغشائية مترافقة مع الطبقة المضاعفة الشحمية:

تعمل الشحميات الفسفورية الغشائية كمذيب للبروتينات الغشائية، وهذا يخلق وسطاً تستطيع البروتينات أن تقوم بوظائفها فيه. ومن بين الأحماض الأمينية العشرين المساهمة في البنية الأولية للبروتينات، تكون الزمر الوظيفية المرتبطة بالكربون ألفا (α) كارهة جداً للماء في ستة أحماض، وكارهة قليلاً للماء في بضعة منها، ومحبة للماء في الأحماض الباقية. وكما ناقشنا في (الفصل 6)، تخفف البنية الحلزونية α- للبروتينات إلى الحد الأدنى من الطبيعة المحبة للماء للروابط البتيدية نفسها. ولهذا، فإن البروتينات يمكن أن تكون متقابلة الزمر وتشكل جزءاً متمماً في الغشاء بامتلاكها مناطق محبة للماء تبرز عند وجهي الغشاء الداخلي والخارجي، لكنها متصلة بمنطقة كارهة للماء تجتاز لب الطبقة المضاعفة الكاره للماء. وتحوي في الواقع، تلك الأجزاء من البروتينات الغشائية التي تجتاز الأغشية أعداداً كبيرةً من الأحماض الأمينية الكارهة للماء ومحتوى عالياً إما من الحلزون α- أو من الصفيحة β (بيتا) المنطوية (المنثنية).

يتراوح عدد البروتينات المختلفة في الغشاء من ستة إلى ثمانية مثلاً في الشبكة الهيولية العضلية، وإلى أكثر من 100 في الغشاء البلازمي. وتتألف البروتينات من الإنزيمات، والبروتينات الناقلة والبروتينات البنيوية، والمستضدات (مثل مستضدات

التوافق النسيجي (Histocompatibility)) ومستقبلات الجزيئات المتنوعة. ولأن كل غشاء يمتلك مجموعة مختلفة من البروتينات، لذلك لا يوجد شيء يماثل البنية النموذجية للغشاء. ويبين (الجدول 43-2) الخصائص الإنزيمية لعدة أغشية مختلفة.

وتعد الأغشية مع مكوناتها بنى ديناميكية، فالشحميات والبروتينات في الأغشية تتقلب (Turnover)، تماماً مثلما تفعل في الأحياز الأخرى من الخلية. وتكون للشحميات المختلفة معدلات تقلب مختلفة، وقد تختلف معدلات تقلب أنواع البروتينات الغشائية كل على حدة بشكل كبير بحسب أنماط البروتينات.

ويمكن أن يتقلب الغشاء بحد ذاته بسرعة أكبر من التي لأي مكون فيه. وسيناقش هذا بالتفصيل في الفقرة الخاصة بالالتقام.

الغشاء	**الإنزيم**
البلازمي	5´– نوكليوتيداز سيكلاز الأدينيليل (محلقة الأدينيليل) Na^+ - K^+ - ATP آز
الشبكة الهيولية الباطنة	جلوكوز –6– فسفاتاز
جهاز جولجي المقرون الأوسط المفروق TGN	 ناقلة (ترانسفيراز) Glc Nac رقم I مانوزيداز جولجي II ناقلة الجالاكتوزيل ناقلة السياليل
الغشاء المتقدري الداخلي	سنتاز الـ ATP

الجدول 43-2 : الواسمات الإنزيمية للأغشية المختلفة (1).

(1) – تحوي الأغشية عدة بروتينات، يتمتع بعض منها بفعالية إنزيمية. وتتوضع بعض هذه الإنزيمات فقط في بعض الأغشية، لذلك يمكن استخدامها كواسمات لمتابعة عملية تنقية هذه الأغشية.

الأغشية هي بنى لا متناظرة:

يمكن أن يعزى هذا اللاتناظر جزئياً إلى التوزع غير المنتظم للبروتينات في الأغشية. كما أن اللاتناظر الداخلي ـ الخارجي ناتج عن التوضع الخارجي للسكريات المرتبطة بالبروتينات الغشائية. إضافة إلى ذلك، تتوضع إنزيمات نوعية حصراً على السطح الخارجي أو الداخلي من الأغشية، كما هو الحال في الأغشية المتقدرية والبلازمية.

ويوجد لاتناظرات ناحية في الأغشية. حيث يكون بعضها مرئياً بشكل عياني تقريباً، مثل اللاتناظر الموجود في الحافة الزغابية للخلايا المخاطية. أما الأخرى، كتلك الموجودة في الموصلات الفجوية والموصلات المحكمة والمشابك (Synapses)، فتشغل مناطق صغيرة جداً في الأغشية.

ويوجد أيضاً لاتناظر داخلي ـ خارجي (مستعرض Transverse) في الشحميات الفسفورية. فالشحميات الفسفورية الحاوية على الكولين (فسفاتيديل الكولين والسفنجوميلين) تكون متوضعة بشكل رئيسي في الطبقة الجزيئية الخارجية، في حين تتوضع الشحميات الأمينية الفسفورية (فسفاتيديل السيرين وفسفاتيديل الإيثانولامين) على نحو أفضل في الطبقة الداخلية. ويوجد الكوليسترول عموماً على الجانب الخارجي بكميات أكبر منها على الجانب الداخلي. ومن الواضح أنه إذا كان هذا اللاتناظر موجود تماماً، فمن الضروري أن تكون الحركة المستعرضة (رجرجة Flip-flop) للشحميات الفسفورية الغشائية محدودة. وفي الواقع تبدي الشحميات الفسفورية في الطبقات المضاعفة التركيبية معدل رجرجة بطيئاً للغاية، ويمكن قياس العمر النصفي للاتناظر بعدة أسابيع. ومع ذلك، فعندما يتم انغراز بعض البروتينات الغشائية، مثل بروتين الكريات الحمر المسمى جليكوفورين، بشكل اصطناعي ضمن طبقات مضاعفة تركيبية، فإنه قد يزداد تواتر رجرجة الشحميات الفسفورية حتى 100ضعف.

إن الآليات المساهمة في ترسيخ لاتناظر الشحميات غير مفهومة تماماً. وتتوضع الإنزيمات المشتركة في تخليق الشحميات الفسفورية على الجانب الهيولي من حويصلات أغشية الجسيمات الصغرية (الصغرورات). لذلك فلقد افترض وجود إنزيمات ترانس لوكاز (Translocase) فليباز (Flippase) تقوم بنقل شحميات

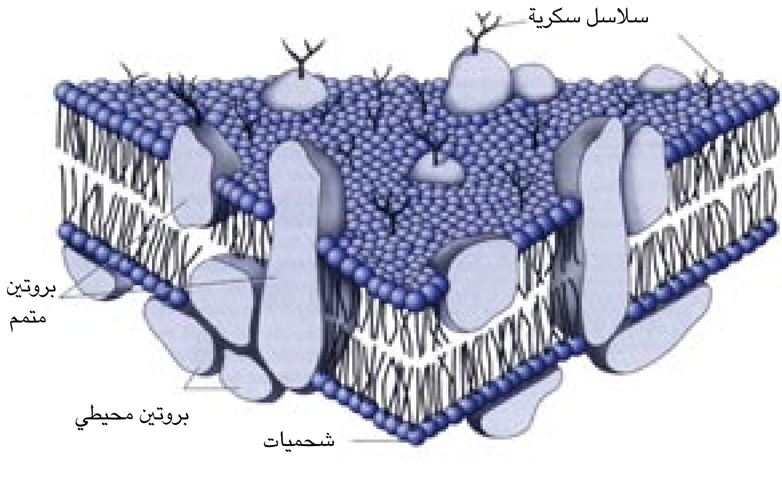
فسفورية معينة (مثل فسفاتيديل الكولين) من الوريقة الداخلية إلى خارجها. وقد توجد بروتينات نوعية تَربط بشكل تمييزي شحميات فسفورية مستقلة في الوريقتين (الطبقتين)، فتسهم بذلك في توزع هذه الجزيئات الشحمية بشكل لا تناظري. علاوة على ذلك، قد تميز بروتينات تبادل الشحميات الفسفورية الشحميات الفسفورية النوعية وتنقلها من غشاء ما (مثل الشبكة الهيولية الباطنية ER) إلى أغشية أخرى (مثل الأغشية المتقدرية، وأغشية الجسيمات البيروكسية).

تحوي الأغشية بروتينات متممة ومحيطية (الشكل 43-7):

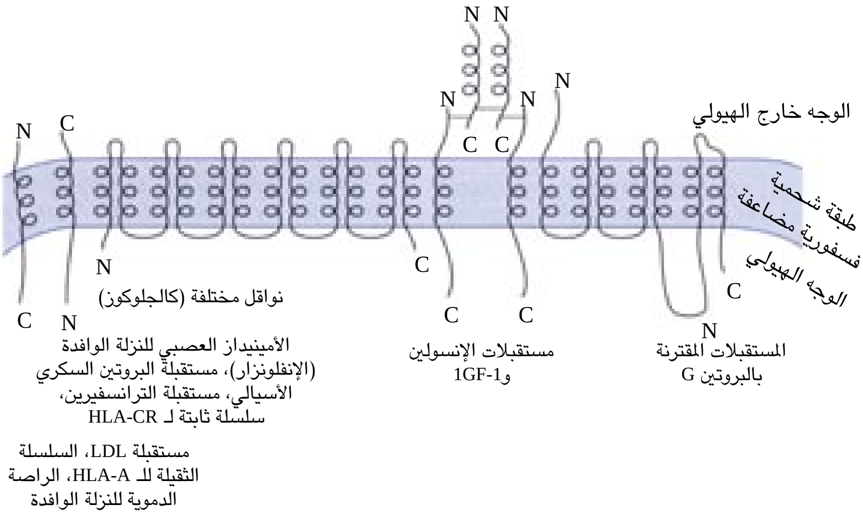
من المفيد تصنيف البروتينات الغشائية إلى نمطين: متممة (اندماجية: Integral) ومحيطية (Peripheral). حيث أن معظم البروتينات الغشائية هي مكونات متممة في الغشاء (تتآثر مع الشحميات الفسفورية ويجب استخدام المنظفات لإذابتها)، وفي الواقع، تجتاز كل تلك البروتينات، والتي سبق أن درست بشكل كاف، المسافة المستعرضة (العرضية) في الطبقة المضاعفة، والتي تتراوح من 5 إلى 10 نانومتر بشكل كامل. وتكون هذه البروتينات المتممة كريوية (كروية) عادة ومتقابلة الزمر بحد ذاتها، وتتألف من نهايتين محبتين للماء مفصولتين بمنطقة متوسطة كارهة للماء تجتاز لب الطبقة المضاعفة الكاره للماء. وبما أنه تم إيضاح بنى البروتينات الغشائية المتممة، فمن الواضح أن بعضاً منها (بخاصة الجزيئات الناقلة) قد يجتاز الطبقة المضاعفة مرات عديدة (الشكل 34-8).

تتوزع البروتينات المتممة بشكل لا تناظري عبر الطبقة المضاعفة الغشائية. وتأخذ هذه البروتينات توجهها اللاتناظري في الغشاء عندما تنغرز في الطبقة المضاعفة الشحمية. وينبغي أن تجتاز المنطقة الخارجية المحبة للماء من البروتين متقابل الزمر، والتي من المعروف أنه يتم تخليقها داخل الخلية، ولب الغشاء الكاره للماء لتصبح في النهاية خارج الغشاء. وسيجري لاحقاً مناقشة الآليات الجزيئية لتجميع الغشاء. من جانب آخر، لا تتآثر البروتينات المحيطية بشكل مباشر مع الشحميات الفسفورية في الطبقة المضاعفة، لذلك لا يحتاج الأمر لاستخدام المنظفات من أجل تحريرها. وتكون مرتبطة بشكل ضعيف بالمناطق المحبة للماء من البروتينات المتممة النوعية، وتستطيع أن تتحرر منها عند المعاملة بمحاليل ملحية ذات قوة أيونية عالية. فعلى

سبيل المثال، يرتبط الأنكيرين (Ankyrin)، وهو بروتين محيطي، بالبروتين المتمم «العصابة 3» من غشاء الكرية الحمراء. أما السبكترين (Spectrin)، وهو بنية خلوية هيكلية في الكرية الحمراء، فهو بدوره يرتبط بالأنكيرين وبذلك يلعب دوراً مهماً في المحافظة على الشكل مقعر الوجهين للكرية الحمراء. وتعد جزيئات الجلوبين المناعي الموجودة على الأغشية البلازمية للمفاويات بروتينات غشائية متممة يمكنها أن تتحرر بالانتشار إلى قطع صغيرة من الغشاء. كما أن العديد من الجزيئات المستقبلة للهرمونات هي بروتينات متممة، وبناء عليه يمكن النظر للهرمونات عديدة الببتيد النوعية التي ترتبط بهذه الجزيئات المستقبلة على أنها بروتينات محيطية، حتى أن البروتينات المحيطية، كالهرمونات الببتيدية، قد تقوم بتنظيم توزع البروتينات المتممة، مثل مستقبلاتها، ضمن مستوى الطبقة المضاعفة (انظر لاحقاً).



الشكل 43-7 : الطراز السائلي المزيق (الفسيفسائي) لبنية الأغشية. يتألف الغشاء من طبقة شحمية ثنائية الجزيئات مع بروتينات منغرزة فيها أو مرتبطة بأحد السطحين. تكون البروتينات الغشائية المتممة (الاندماجية) منطمرة بإحكام في الطبقات الشحمية. حيث يعبر بعض من هذه البروتينات الطبقة المضاعفة بشكل كامل وتسمى البروتينات العابرة للغشاء، في حين تكون الأخرى منطمرة إما في الوريقة الخارجية أو الداخلية من الطبقة المضاعفة الشحمية. وتكون البروتينات مرتبطة بشكل ضعيف بالسطح الخارجي أو الداخلي من الغشاء. ويمتلك العديد من البروتينات والشحميات سلاسل قليلة السكاريد مكشوفة للجهة الخارجية.



الشكل 8-43 : الاختلافات في الطريقة التي تنغرز وفقها البروتينات في الأغشية. يبين هذا الرسم التخطيطي، الذي يوضح عدد الاتجاهات الممكنة، أجزاء البروتينات التي تكون ضمن الغشاء كالحلزونات α– وأجزاء أخرى تكون خطية. يطلق على مستقبل LDL، الذي يعبر الغشاء لمرة واحدة ويكون طرفه الأميني في الخارج، تسمية البروتين العابر للغشاء من النمط I. أما مستقبل البروتين السكري اللاسيالي، الذي يعبر الغشاء مرة واحدة أيضاً ـ لكن يكون طرفه الكربوكسيلي في الخارج، فيسمى البروتين العابر للغشاء من النمط II؛ وتعرف أيضاً بالبروتينات الغشائية متعددة الموضع. (N: طرف أميني؛ C: طرف كربوكسيلي).

تعطي الأغشية الاصطناعية تصوراً عن وظيفة الغشاء

يمكن تحضير جمل الأغشية الاصطناعية بتقانات مناسبة. وتتألف هذه الجمل عموماً من مزائج لواحد أو أكثر من الشحميات الفسفورية ذات المنشأ الطبيعي أو الصنعي، والتي يمكن معالجتها (معاملتها) (كاستخدام الأمواج الخفيفة فوق الصوتية أي الصَوْتنة (Sonication)) لتشكيل حويصلات كروية تشكل الشحميات فيها طبقة مضاعفة. وتسمى مثل هذه الحويصلات المحاطة بطبقة مضاعفة شحمية بالجسيمات الشحمية (Liposomes).

وفيما يلي بعض فوائد استخدامات الجمل الغشائية الاصطناعية في دراسة وظيفة الغشاء:

(1) يمكن أن يتنوع المحتوى الشحمي في الأغشية، مما يسمح بإجراء اختبار منهجي لتأثيرات تنوع التركيب الشحمي في وظائف معينة. مثلاً: يمكن صنع حويصلات مؤلفة فقط من فسفاتيديل الكولين، أو بدلاً عن ذلك، من مزائج معروفة من شحميات فسفورية مختلفة وشحميات سكرية وكولسترول.

ويمكن أيضاً أن تتنوع أجزاء الأحماض الدهنية في الشحميات المستخدمة وذلك باستعمال شحميات اصطناعية (تركيبية) ذات تركيب معروف مما يسمح بإجراء اختبار منهجي لتأثيرات تركيبة الأحماض الدهنية في بعض الوظائف الغشائية (كالنقل مثلاً).

(2) يمكن أن تنجبل البروتينات أو الإنزيمات الغشائية النقية ضمن هذه الحويصلات لتحديد أي عوامل (مثل الشحميات النوعية أو البروتينات المساعدة) تحتاجها البروتينات لإعادة بناء وظيفتها (الاستنشاء). ولقد اقترحت الاستقصاءات، التي أجريت على بروتينات نقية، مثل ATP آز– Ca^{2+} الخاص بالشبكة الهيولية العضلية، أنه في حالات معينة، يلزم بروتين وحيد وشحم وحيد من أجل إعادة بناء مضخة إيونية.

(3) يمكن أن تكون بيئة هذه الجمل مضبوطة بدقة ومتقلبة بشكل نظامي (مثل تراكيز الأيونات). كما يمكن أن تتعرض هذه الجمل إلى لجائن معروفة فيما إذا، على سبيل المثال، احتوت الجسيمات الشحمية بروتينات مستقبلة نوعية.

(4) عندما تتشكل الجسيمات الشحمية، فإنه يمكن أن تحتجز داخلها مركبات معينة، مثل الأدوية والجينات المعزولة. ويوجد اهتمام حول استخدام الجسيمات الشحمية في توزيع الأدوية إلى أنسجة معينة، وإذا أمكن إدخال مركبات ما (مثل أضداد لجزيئات معينة على السطح الخلوي) في الجسيمات الشحمية، بحيث يمكن تهديفها إلى أنسجة معينة أو أورام، فإن التأثير العلاجي سيكون كبيراً. ويبدو أن جزيئات الدنا (DNA) المحتجزة داخل الجسيمات الشحمية هي أقل حساسية لهجوم إنزيمات النوكلياز؛ وقد يكون ذلك مفيداً في مساعي المعالجة بالجينات.

لاقى النموذج السائلي المزيّق لبنية الغشاء قبولاً واسعاً:

اقترح العالمان سينجر (Singer) ونيكولسون (Nicolson) عام 1972 النموذج السائلي المزيق (الفسيفسائي) لبنية الغشاء (الشكل 43-7)، والذي يلقى الآن قبولاً واسعاً. وكثيراً ما يشبه هذا النموذج بجبال جليدية (بروتينات غشائية) طافية في بحر تسود فيه جزيئات من الشحميات الفسفورية. أما الدليل المبكر على هذا النموذج فكان إعادة التوزع السريعة والعشوائية لبروتينات متممة نوعية للنوع في الغشاء البلازمي لخلية مهجنة بينياً في النوع، والتي تشكلت بتحريض اندماج خليتين أبويتين مختلفتين بشكل اصطناعي. وتبين بعد ذلك أن الشحميات الفسفورية تخضع أيضاً لإعادة توزع سريعة في مستوى الغشاء. ويطلق على هذا الانتشار ضمن مستوى الغشاء بالانتشار التبديلي (الانتقالي)، ويمكن أن يكون سريعاً تماماً بالنسبة لشحم فسفوري ما؛ وفي الواقع، يمكن للجزيء الواحد من الشحم الفسفوري أن يتحرك ضمن مستوى الغشاء عدة ميكرومترات في الثانية. تعتمد التبدلات الطورية، وبناء على ذلك سائلية الأغشية، وبشكل كبير، على التركيب الشحمي في الغشاء. ففي طبقة مضاعفة شحمية ما، يمكن أن تكون السلاسل الكارهة للماء في الأحماض الدهنية مرتبطة أو مرتبة بحيث تعطي بنية قاسية نوعاً ما. وعندما تزداد درجة الحرارة، فإن السلاسل الجانبية الكارهة للماء تخضع للانتقال من الحالة المرتبة (الشبيهة أكثر بالهلام أو الطور الزجاجي أو البلّوري) إلى حالة غير مرتبة (أو مضطربة)، مؤدياً ذلك إلى ترتيب سائلي أو شبيه بالسائل. ويطلق على درجة الحرارة التي يتم عندها خضوع البنية للانتقال من حالة مرتبة إلى لا مرتبة (أي الانصهار) بدرجة حرارة التحول (T_m).وتتأثر سلاسل الأحماض الدهنية الأطول والأكثر إشباعاً بقوة أكبر مع بعضها بعضاً عن طريق سلاسلها الهيدروكربونية الطويلة وبذلك فهي تسبب ارتفاع قيم T_m، أي تلزم درجات حرارة أعلى لزيادة سائلية الطبقة المضاعفة. ومن جانب آخر، تميل الروابط اللامشبعة الموجودة بالشكل المقرون إلى زيادة سائلية الطبقة المضاعفة بتخفيض اكتناز أو حشو السلاسل الجانبية دون نقص «كره» الماء (Hydrophobicity) (الشكل 43-3). وتحوي الشحميات الفسفورية للأغشية الخلوية عموماً حمضاً دهنياً لا مشبعاً واحداً على الأقل فيه رابطة مضاعفة واحدة على الأقل من الشكل المقرون.

يعدل الكوليسترول سائلية الأغشية. فهو عند درجات حرارة أخفض من T_m يتداخل مع تآثر الذيول الهيدروكربونية للأحماض الدهنية وبذلك يزيد السائلية. أما عند درجات حرارة أعلى من T_m، فيحد من الاضطراب أو اللاترتيب، لأنه يكون أكثر قساوة من الذيول الهيدروكربونية للأحماض الدهنية، ولا يستطيع أن يتحرك في الغشاء بالدرجة نفسها، مما يؤدي إلى انخفاض السائلية. وعند النسب المرتفعة من كوليسترول: شحم فسفوري، فإن درجات حرارة التحول تزول بالكامل.

تؤثر سائلية غشاء ما بشكل كبير في وظائفه. فعندما تزداد سائلية الغشاء تزداد معها كذلك نفوذيته تجاه الماء والجزيئات الصغيرة الأخرى المحبة للماء، كما تزداد الحركة الجانبية للبروتينات المتممة بزيادة سائلية الغشاء. وإذا كان المقر الفعّال في البروتين المتمم مساهماً في بعض وظائف هذا البروتين، فإنه يستقر حصراً في مناطقه المحبة للماء، وسيكون للتغير في السائلية الشحمية تأثير ضئيل على الأرجح في فعالية البروتين؛ عدا عن ذلك، فإذا كان البروتين مشتركاً بوظيفة نقل ما يتم فيها نقل المكونات عبر الغشاء، فإن تأثيرات الطور الشحمي قد تغير معدل النقل بشكل ملحوظ. وتعد مستقبلة الإنسولين مثالاً ممتازاً عن تبدل الوظيفة إزاء التغيرات بالسائلية (انظر الفصل 51). وعندما يزداد تركيز الأحماض الدهنية اللامشبعة في الغشاء (بنمو الخلايا المستنبتة في وسط غني بمثل هذه الجزيئات) فإن السائلية تزداد، وهذا سوف يغير المستقبل بحيث يربط المزيد من الإنسولين.

قد تنحصر حالة السائلية، وبناء على ذلك الحركة الانتقالية في غشاء ما، في مناطق معينة بالأغشية وذلك في شروط معينة. فعلى سبيل المثال، قد تحدث تآثرات بروتين ـ بروتين ضمن مستوى الغشاء، بحيث تشكل البروتينات المتممة مطرساً قاسياً؛ على عكس الحالة المألوفة أكثر، حيث تعمل الشحميات كمطرس. وقد توجد مثل هذه المناطق من المطرس البروتيني القاسي جنباً إلى جنب في الغشاء نفسه مع المطرس الشحمي العادي. ويعد كل من الموصلات الفجوية والموصلات المُحكمة والمناطق الحاوية الرودوبسين الجرثومي في الأغشية الأرجوانية للملحاء (Halobacteria)، أمثلة واضحة عن مثل هذا الوجود المشترك لمطارس مختلفة جنباً إلى جنب.

وتحدث بعض التآثرات بروتين ـ بروتين ضمن مستوى الغشاء وقد تتوسطها بروتينات محيطية متصلة بينياً، مثل الأضداد ذات الارتباط التصالبي، أو اللكتينات التي من المعروف أنها تلتصق أو تشكل قلنسوة على السطوح الغشائية. لذلك، فإن البروتينات المحيطية، ومن خلال ارتباطاتها النوعية، قد تقيد حركة البروتينات المتممة ضمن الغشاء.

إن تجميع الأغشية عملية معقدة:

توجد أغشية خلوية متعددة لكل منها خصائص ذاتية نوعية. لكن لا يوجد مخطط مقنع يصف عملية التجميع لأي من هذه الأغشية. وسنقوم في هذا المقطع (الفقرات التالية) بتسليط الضوء على الإنجازات الأخيرة في هذا المجال، والتي نأمل أن تعطي تصوراً واضحاً عن نماذج تجميع الأغشية. حيث من الضروري الأخذ في الحسبان كل من الشحميات والبروتينات في هذه النماذج. وسيكون الحديث عن الشحميات مختصراً، لأنه قليل ما هو معروف عن كيفية مشاركة الشحميات في تجميع الأغشية.

تتم المحافظة على لاتناظر البروتينات والشحميات خلال تجميع الغشاء:

تبدي الحويصلات المتشكلة من أغشية الشبكة الهيولية الباطنية (ER) وجهاز جولجي، سواء كان تشكلها طبيعياً أو بالتشذيب بوساطة التجنيس، تبدي لاتناظرات مستعرضة بكل من البروتين والشحم. ويجري الحفاظ على هذه اللاتناظرات أثناء اندماج الحويصلات الناقلة مع الغشاء البلازمي. ويصبح الجانب الداخلي من الحويصلات بعد الاندماج خارج الغشاء البلازمي، في حين أن الجانب الهيولي للحويصلات يبقى هو الجانب الهيولي للغشاء (الشكل 43-9). ولأن اللاتناظر المستعرض للأغشية يكون موجوداً في حويصلات ال ER وقبل أن تندمج هذه (تنصهر) بالغشاء البلازمي، فإن المشكلة الرئيسية في عملية تجميع الأغشية تتمحور حول توضيح كيفية انغراز البروتينات المتممة في الطبقة المضاعفة الشحمية

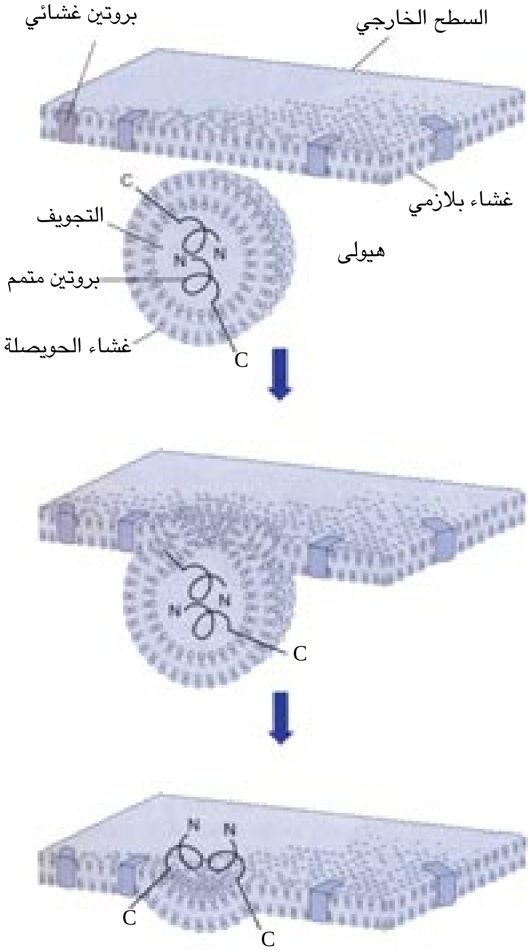
بالـ ER. وسيناقش ذلك لاحقاً. الشحميات الفسفورية هي الصف الرئيسي من الشحميات في الأغشية. وتتوضع الإنزيمات المسؤولة عن تخليق الشحميات الفسفورية في السطح الهيولي من صهاريج الـ ER. وحالما تتشكل الشحميات الفسفورية في ذلك الموقع، فهي التي تقوم بنفسها على الأرجح بالانضمام للطبقات ثنائية الجزيء المستقرة من الناحية الثرموديناميكية، موسعة الغشاء بذلك، وربما تعزز انفصال ما يسمى بالحويصلات الشحمية عنه. ولقد افترض أن هذه الحويصلات ترحل إلى مقرات أخرى، حيث تمنح شحمياتها إلى أغشية أخرى؛ لكن القليل ما هو معروف عن هذا الأمر. وكما أشرنا سابقاً بالنسبة لبروتينات العصارة الخلوية التي تتلقى الشحميات الفسفورية من أحد الأغشية وتحررها للآخر (أي بروتينات تبادل الشحميات الفسفورية)، فلقد تبين أنها على الأرجح تلعب دوراً في المساهمة بالتركيب الشحمي النوعي لمختلف الأغشية.

تهدَف العديد من البروتينات نحو مقصدها الصحيح بوساطة تسلسلات إشارية:

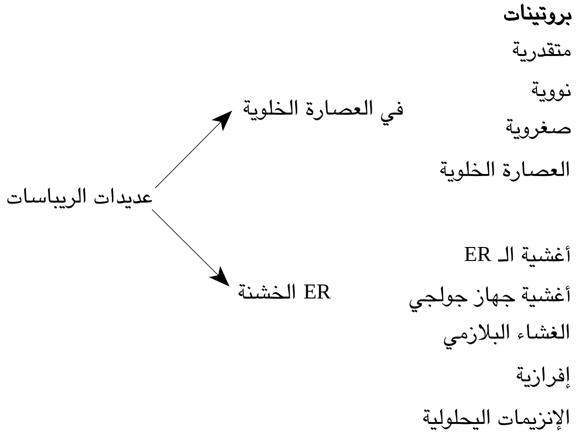
يمكن النظر إلى سبل التخليق الحيوي للبروتينات في الخلايا على أنها جملة فرز واحدة كبيرة. ويحمل العديد من البروتينات إشارات (تكون عادة ـ وليس دائماً تسلسلات نوعية من الأحماض الأمينية) تهدفها نحو مقصدها، فتضمن بذلك أنها ستنتهي (ستصل إلى) في الغشاء أو في الحيز الخلوي الصحيح؛ وهذه الإشارات هي مكونات أساسية في جملة الفرز.

ويكون قرار الفرز الرئيسي موضوعاً بشكل مبكر خلال التخليق الحيوي للبروتين، وذلك عندما تتركب البروتينات النوعية على عديدات الريباسات الحرة أو المرتبطة بالأغشية؛ حيث يؤدي هذا إلى وجود فرعين للفرز، يدعيان فرع العصارة الخلوية (Cytosolic branch) وفرع الشبكة الهيولية الباطنية الخشنة (Rough ER branch) على الترتيب (الشكل 34-10). ويحدث هذا الفرز لأن البروتينات المتشكلة على عديدات الريباسات المرتبطة بالأغشية تحوي ببتيداً إشارياً (Signal peptide)

يتوسط ارتباطها بغشاء الـ ER. وسنناقش موضوع الببتيد الإشاري بالتفصيل فيما بعد. أما البروتينات المتشكلة على عديدات الريباسات الحرة فتفتقد لهذا الببتيد الإشاري وهي تسلم إلى العصارة الخلوية، حيث توجه هناك إلى المتقدرات والنوى والجسيمات البيروكسية بإشارات نوعية، أو تبقى في العصارة الخلوية إن كانت من دون أية إشارة.



الشكل 43-9 : يحافظ انصهار الحويصلة بالغشاء البلازمي على توجيه أي بروتينات متممة منطمرة في الطبقة المضاعفة للحويصلة. حيث إن الطرف الأميني للبروتين يواجه التجويف في البداية، أو الجوف الداخلي لمثل هذا الحويصل. وبعد الانصهار يكون الطرف الأميني على السطح الخارجي من الغشاء البلازمي. ويمكن إدراك أنه لم يُعْكَس اتجاه البروتين بملاحظة أن النهاية الأخرى من الجزيء، أي الطرف الكربوكسيلي، تكون منطمرة دائماً في الهيولى. ويكون تجويف الحويصل والجانب الخارجي من الخلية متكافئين من ناحية التوضع.



الشكل 43-10 : رسم تخطيطي لفرعي إفراز البروتينات خلال التخليق على (1) عديدات الريباسات في العصارة الخلوية و (2) المرتبطة بالأغشية. وتكون البروتينات المتقدرية المدرجة مرمّزة على جينات نووية.

إن العديد من البروتينات المتشكلة والمفروزة في فرع ER الخشنة (الشكل 43-11) يكون مخصصاً للأغشية المختلفة (مثل الـ ER وجهاز جولجي والجسيمات الحالة والغشاء البلازمي) وأيضاً للإفراز، ويشمل ذلك إنزيمات الجسيمات الحالة أيضاً. لذلك فإن مثل هذه البروتينات قد تتوضع في أغشية الـ ER أو في تجويفها أو تتبع الطريق الرئيسي لنقل البروتينات داخل الخلوية إلى جهاز جولجي. كما يجرى فرزاً إضافياً متواسِّطاً بالإشارة لبعض البروتينات في جهاز جولجي، ويؤدي لتسليمها إلى الجسيمات الحالة ولأغشية جهاز جولجي ولمواقع أخرى.

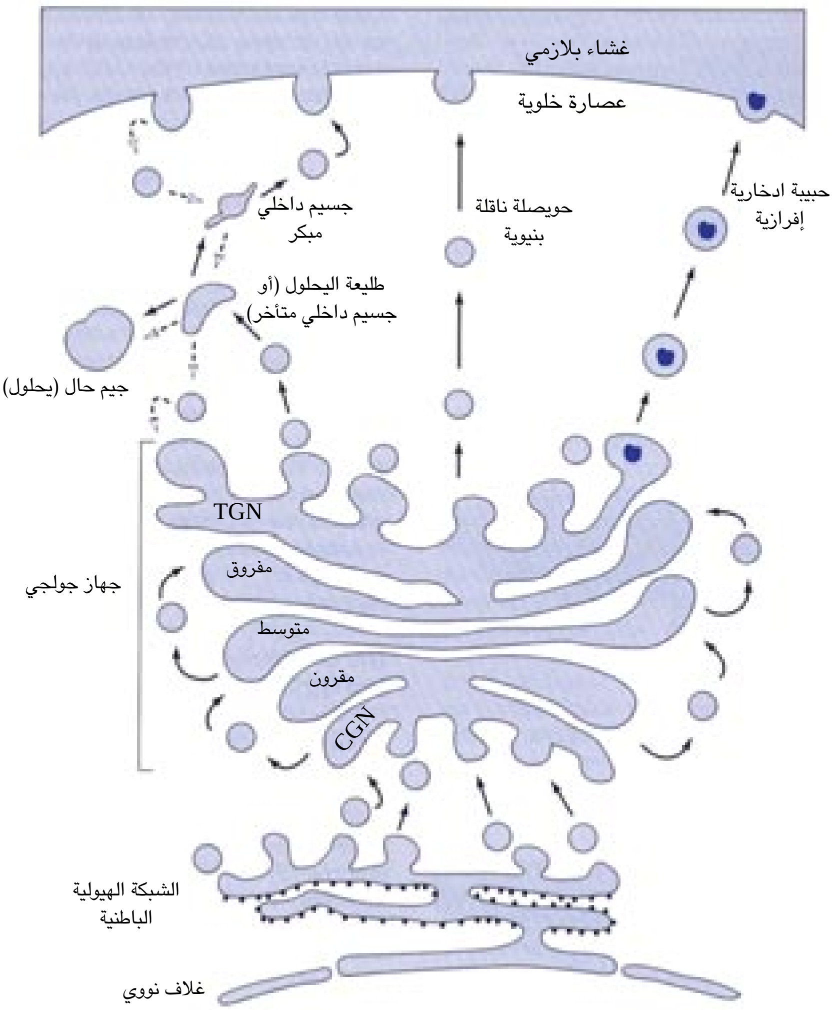
وتعبر البروتينات المخصصة للغشاء البلازمي أو للإفراز من خلال جهاز جولجي، ولا يعتقد عموماً أنها تحمل إشارات فرز نوعية؛ وتصل مبتغاها افتراضياً. غالباً ما يطلق على السبيل الكامل من ER جهاز جولجي الغشاء الخلوي تسمية السبيل الإفرازي أو الإيماسي (الالتفاظي) (Secretory or exocytotic pathway). ويُعطى للحوادث الجارية على طول هذا الطريق اهتمام خاص، فمعظم البروتينات التي تصل لجهاز جولجي أو للغشاء الخلوي تكون محمولة في حويصلات النقل؛ وسنشرح بإيجاز فيما بعد كيفية تشكل هذه الجسيمات المهمة. أما البروتينات الأخرى المخصصة للإفراز فتحمل في حويصلات إفرازية (الشكل 43-11). وتكثر في البنكرياس وبعض الغدد الأخرى. وتكون حركتها وتفريغها من الحمولة (إفراغها) خاضعين للتنظيم، ويطلق عليها غالباً تعبير الإفراز المنظم، في حين يسمى

السبيل الإفرازي المتضمن حويصلات النقل بالسبيل البنيوي. وسنأتي لاحقاً على شرح إفراز البروتينات الخاصة بفرع العصارة الخلوية الذي أشرنا إليه سابقاً.

تقوم المتقدرة بإدخال (توريد) وتخليق البروتينات على حد سواء:

تحوي المتقدرات العديد من البروتينات، حيث يضم المجين المتقدري (Mitochondrial genome) راموزاً لنحو ثلاثة عشر بروتيناً، يتم تخليقها في هذه العضية باستخدام جملتها الذاتية الخاصة بتخليق البروتين، إلا أن ترميز أغلب هذه البروتينات (على الأقل عدة مئات) موجود في الجينات النووية، ويتم تخليقها خارج المتقدرات على عديدات الريباسات في العصارة الخلوية، ويجب توريدها بعد ذلك لداخل المتقدرات. لقد أضحت خلايا الخميرة جملة مفيدة تستخدم بشكل خاص في تحليل آليات توريد البروتينات المتقدرية، لأنه تبين أنها قادرة، ولو جزئياً، على توليد طفرات مختلفة هي التي سلطت الضوء على العمليات الأساسية المساهمة في تلك الآليات. وتحقق معظم التقدم في هذا الشأن عند دراسة البروتينات الموجودة في المطرس المتقدري، مثل وحيدات F_1ATPase. وسنناقش هنا بشيء من التفصيل فقط سبيل توريد بروتينات المطرس.

يجب على بروتينات المطرس أن تمر مِن عديدات الريباسات في العصارة الخلوية عِبر غشائي المتقدرة الداخلي والخارجي لكي تصل مقصدها. ويسمى العبور خلال هذين الغشائين بالإزفاء (Translocation). وتمتلك هذه البروتينات تسلسلاً قيادياً بالنهاية الأمينية (تسلسل طليعي Presequence)، مؤلف من نحو 20-60 حمضاً أمينياً، حيث لا تجري المحافظة على هذا التسلسل بدرجة عالية، لكنه يحوي العديد من الأحماض الأمينية المشحونة إيجابياً (مثل الليسين أو الأرجينين)، ومن المرجح أنه يُشكل الحلزونات α– متقابلة الزمر في الأغشية. ويكون التسلسل الطليعي معادلاً لببتيد إشاري يتوسط ارتباط عديدات الريباسات بأغشية الـ ER (انظر لاحقاً)، لكنه في هذه الحالة يهدف البروتينات نحو المطرس؛ أما إذا كان التسلسل القيادي مفصولاً، فإن بروتينات المطرس المحتملة لن تصل إلى مبتغاها.



غشاء بلازمي
عصارة خلوية
جسيم داخلي
مبكر
حويصلة ناقلة
بنيوية
حبيبة ادخارية
إفرازية
طليعة اليحلول (أو
جسيم داخلي متأخر)
جيم حال (يحلول)
TGN
مفروق
جهاز جولجي
متوسط
مقرون
CGN
الشبكة الهيولية
الباطنية
غلاف نووي

الشكل 43-11 : رسم تخطيطي لفرع الشبكة الهيولية الباطنية الخشنة لإفراز البروتينات. تنغرز البروتينات التي يجري تخليقها حديثاً في غشاء الـ ER أو في التجويف من عديدات الريباسات المرتبطة بالأغشية (تشير الدوائر الصغيرة السوداء إلى وجه الـ ER المحاذي للعصارة الخلوية). وتقوم العناصر الناقلة الخالية من الريباسات بفعل الأمر ذاته للبروتينات التي تنقل لخارج الـ ER (أشير إليها بأسهم سوداء عادية). وقد تمر مثل هذه البروتينات بعد ذلك خلال أحياز فرعية متعددة من جهاز جولجي حتى تصل لشبكة جولجي المفروقة (TGN)، أي لجهة المخرج من جولجي. ويجري في الـ TGN فصل البروتينات عن بعضها ومن ثم تخزينها. وتتراكم البروتينات الافرازية في الحبيبات الادخارية الافرازية التي يمكن أن تقذف منها كما هو مبين في الجانب الأعلى ولجهة اليمين من الشكل. وتحمل البروتينات المخصصة للغشاء البلازمي أو تلك التي تفرز بطريقة بنيوية إلى سطح الخلية في حويصلات ناقلة، كما هو موضح في القسم الأوسط العلوي من الشكل. وقد تصل بعض البروتينات إلى سطح الخلية عن طريق الجسيمات الدخلية المتأخرة والمبكرة. وتدخل بروتينات أخرى لطليعة اليحلولات (جسيمات داخلية متأخرة) ثم تنتقل انتقائياً إلى اليحلولات. وقد تم التطرق في مكان آخر من هذا الفصل إلى السبيل داخل الخلوي الموضح في القسم العلوي وللجانب الأيسر من الشكل. ولم يبين في هذا المخطط عملية الاسترجاع من جهاز جولجي إلى الـ ER. (CGN: شبكة جولجي المقرونة، TGN: شبكة جولجي المفروقة).

يعتقد أن عملية الإزفاء تجري بعد الترجمة (ترجمة mRNA إلى بروتين)، أي بعد أن تتحرر بروتينات المطرس من عديدات ريباسات العصارة الخلوية. ويحدث تآثر مع عدد من بروتينات العصارة الخلوية التي تعمل كشابرونات (Chaperones) (مرافقات أو وصية للإيصال، انظر فيما بعد) وكعوامل تهديف، وذلك قبل عملية الإزفاء، وهذا التآثر ضروري لكي يستمر توريد البروتين بشكل ناضج.

يتوضع اثنان من معقدات الإزفاء المتميزة في غشائي المتقدرة الخارجي والداخلي، يعرفان على الترتيب بـ TOM (ترانس لوكاز الغشاء الخارجي) و TIM (ترانس لوكاز الغشاء الداخلي). وقد تم تحليل كل معقد منهما وتبين أنهما يتألفان من عدة بروتينات، يعمل بعضها كمستقبلات للبروتينات الواردة حديثاً، في حين أن الأخرى هي كمقومات في المسام عبر الغشائية، والتي يجب أن تمر من خلالها هذه البروتينات. كما يجب أن تكون البروتينات في الحالة غير المتطوية (غير المنثنية) لكي تستطيع المرور خلال المعقدات، ومن المحتمل أن ينجز ذلك عن طريق الارتباط بالبروتينات المرافقة المتعددة المعتمد على ATP. وسنناقش فيما بعد في هذا الفصل أدوار البروتينات المرافقة في انطواء البروتينات. التي تشترك في المتقدرات بكل من إزفاء وإفراز وتطوية وتجميع وتدرك البروتينات الواردة. ويستلزم إدخالها وجود قوة محركة للبروتونات عبر الغشاء الداخلي، هي حصيلة كل من الكمون الكهربائي عبر الغشاء (سالب في الداخل) ومدوج الباهاء pH (انظر الفصل 14). وقد يتلقى التسلسل القيادي ذو الشحنة الإيجابية المساعدة من خلال الغشاء عن طريق شحنة المطرس السالبة. وينشطر التسلسل الطليعي في المطرس؛ تأثير ببتيداز المعالجة في المطرس (Matrix-processing peptidase;MPP)، المؤلف من المركب α و β . ويعد التَمَّاس مع المرافقات الأخرى الموجودة في المطرس أمراً ضرورياً لإتمام عملية الإدخال (التوريد) ككل.

ويؤمن التآثر مع البروتين المتقدري mt-Hs p 70 (Hsp = بروتين الصدمة الحرارية) توريداً مناسباً إلى المطرس، وهو يمنع حدوث الانثناء الاعتباطي (السيء) أو التكدس، في حين أن التآثر مع جملة mt-Hsp 60- Hsp 10 يضمن حصول الانثناء الملائم. وتشبه البروتينات الأخيرة المرافقات GroEl في الجراثيم، وهي طائفة من المرافقات التي تشكل تجمعات معقدة شبيهة بالقفص، مركبة من بنى حلقية

سباعية القسيمة (مَسْبوعة) (Heptameric). ويستلزم تآثر البروتينات الواردة مع المرافقات المذكورة أعلاه حلمهة الـ ATP للمضي بها قدماً.

تم اقتراح نموذجين عن كيفية إزفاء البروتينات المتقدرية هما: نموذج السقاطة (الدولاب المسنن) (ratchet M.) ونموذج الإزفاء المُحَرِّك (Translocation motor M.). حيث يعطي الأول تصوراً عن أن البروتينات الطليعية (قبل البروتينات (Preproteins)) تنزلق خلال قنوات TOM و TIM وهي في حالاتها المنبسطة، وأن ارتباطها مع Hsp 70 يوقعها في المطرس المتقدري. أما الثاني فيفترض أن الارتباط بالـ mt-Hsp 70 يمارس قوة جاذبة (ساحبة) على البروتينات التمهيدية، وأن حلمهة الـ ATP تحث على حدوث تبدل شكلي في Hsp 70 مما يولد طاقة قوية (قارن مع سلوك الميوسين أثناء التقلص العضلي؛ انظر الفصل 58) لسحب هذه البروتينات التمهيدية للداخل.

إن ما سبق ذكره هو وصف للسبيل الرئيسي للبروتينات المخصصة للمطرس المتقدري. إلا أن بعض البروتينات تنغرز في الغشاء المتقدري الخارجي بتسهيل من المعقد TOM. وتتوقف الأخرى في الفراغ بين الغشائين، وبعضها ينغرز في الغشاء الداخلي. مع أن بعضها الآخر يصل لداخل المطرس ثم يعود إلى الغشاء الداخلي أو للفراغ بين الغشائين. هناك بروتينات متقدرية معينة لا تحوي تسلسلات تمهيدية، في حين تحوي الأخرى تسلسلات تمهيدية داخلية. ويتضح لنا بشكل عام، أن البروتينات تستخدم آليات وطرقاً متنوعة ومتعددة للوصول إلى وجهتها النهائية في المتقدرات.

يوجز (الجدول 43-3) بعض الملامح العامة المطبقة عند توريد البروتينات للعضيات التي منها المتقدرات وبعض العضيات الأخرى التي ستناقش لاحقاً.

* يجري توريد البروتين للعضي بثلاث مراحل عادة؛ التمييز (التعرف) والإزفاء والنضج.
* يتم تمييز (التعرف) على تسلسلات التهديف على البروتين في الهيولى أو على سطح العضي.
* يكون البروتين غير منطو (غير مثني) من أجل الإزفاء، وهي حالة يتم الحفاظ عليها في الهيولى بوساطة المرافقات.
* يتطلب إمرار البروتين خلال الغشاء الطاقة ومرافقات خاصة بالعصيات على الجانب المفروق من الغشاء.
* تؤدي دورات ارتباط وتحرر البروتين من المرافقات إلى سحب سلسلته عديدة الببتيد خلال الغشاء.
* تقوم بروتينات أخرى في العضي بتحفيز تطوي البروتين، وغالباً تربط عوامل مساعدة أو قليلات سكاريد وتجمعها في قليلات قسيمة نشيطة.

الجدول 3-43 : بعض الملامح العامة عن توريد البروتينات للعضيات.

تشترك الإمبورتينات (الموردات) والإكسبورتينات (المصدرات) في نقل الجزيئات الكبيرة من النواة وإليها:

قدرت الدراسات أن أكثر من مليون جزيء كبير يتم نقلها في كل دقيقة بين النواة والهيولى في الخلية حقيقية النواة النشيطة. وتشمل هذه الجزيئات الكبيرة كلاً من الهيستونات وبروتينات الريباسات (البروتينات الريباسة) والوُحَيّدات الريباسية وعوامل التنسخ وجزيئات mRNA. ويكون النقل ثنائي الاتجاه ويحدث عبر معقدات المسام النووية (NPCs) التي هي بنى معقدة كتلتها أكبر بـ 30 مرة تقريباً من كتلة الريباسة وتتكون من 100-200 بروتيناً. ويبلغ قطر NPC 9 نانومتر تقريباً، لكنه يمكن أن يزداد ليصل إلى نحو 28 نانومتراً. وتستطيع الجزيئات الأصغر وزناً من 40 كيلو دالتون أن تمر خلال قناة الـ NPC بالانتشار، أما الجزيئات الأكبر فتوجد آليات إزفاء خاصة بها. حيث أن هذه الآليات هي موضع المزيد من الاستقصاء، وقد تم مؤخراً التعرف على بعض ملامحها المهمة.

تركز اهتمام معظم الدراسات المتقدمة حتى هذا التاريخ على فهم آلية التوريد النووي لبعض الجزيئات الكبيرة. وظهر تصور عام حول ذلك، هو أن البروتينات

التي يجب توريدها (جزيئات الشحن Cargo) تحمل إشارة تعين توضعها (إشارة توضيع) في النواة (NLS). وأحد الأمثلة عن الـ NLS هو تسلسل الأحماض الأمينية التالي [(برولين) 2– (ليسين) 4– ألانين ـ ليسين ـ ليسين ـ ڤالين]، الذي يكون غنياً على نحو ملحوظ بثمالات الليسين الأساسية. وبالاعتماد على البروتين الذي يحوي الـ NLS، يتآثر جزيء الشحن مع واحد من فصيلة بروتينات ذوابة تسمى الأمبورتينات (الموردات: Importins)، ويتوضع المعقد الناتج (بروتين + إشارة + أمبورتينات) عند الـ NPC (معقد المسام النووي). وهناك فصيلة من البروتينات تسمى "Ran" تلعب دوراً تنظيمياً حاسماً في تآثر المعقد مع الـ NPC وفي إزفائه أيضاً خلال الـ NPC. وبروتينات الـ Ran هي إنزيمات GTPase النووية الصغيرة أُحادية القسيمة وهي، على غرار إنزيمات GTPase الأخرى، موجودة إما في الحالة المرتبطة بـ GTP أو إما في الحالة المرتبطة بـ GOP، وهي تنظم بحد ذاتها بوساطة عوامل تبادل نوكليوتيد الجوانين (GEFs: مثل البروتين RCC1 في حقيقيات النواة)، والتي تكون متوضعة في النواة، وكذلك بوساطة بروتينات الـ Ran المُنَشَّطة بالجوانين (GAPs) التي تسود في الهيولى. وتكون حالة بروتينات الـ Ran المرتبطة بالـ GTP هي الأفضل في النواة، أما الحالة المرتبطة بالـ GDP فهي الأفضل في الهيولى. وتختلف هيئات وفعاليات جزيئات الـ Ran بناء على ارتباط الـ GTP أو الـ GDP بها (الحالة المرتبطة بالـ GTP هي الفعالة؛ انظر مناقشة البروتينات G في الفصل 44). ويعتقد أن اللاتناظر بين النواة والهيولى ـ بالنسبة لأي من هذين النوكليوتيدين الذي يكون مرتبطاً بجزيئات الـ Ran ـ سيكون أمراً فاصلاً في فهم أدوار الـ Ran في نقل المعقدات باتجاه واحد عبر الـ NPC. وعندما تتحرر جزيئات الشحن داخل النواة، فإن الأمبورتينات تعود للهيولى لتدخل هناك دورة عمل أخرى من جديد. ويوجز (الشكل 43-12) بعضاً من الملامح الأساسية في العملية الموصوفة أعلاه.

وتعد إنزيمات GTPase أحادية القسيمة الصغيرة الأخرى (مثل ARF و Rab و Rasو Rho) مهمة في العديد من العمليات الخلوية المتنوعة، مثل تشكيل الحويصلات ونقلها (ARF و Rab ؛ انظر فيما بعد)، وبعض عمليات التمايز والنمو (Ras)، وتشكيل الهيكل الخلوي الأكتيني (Rho؛ انظر الفصل 58). كما أن العملية المتضمنة GTP و GDP هي مهمة أيضاً في نقل البروتينات خلال غشاء الشبكة الهيولية الباطنية (ER) (انظر لاحقاً). وهناك بروتينات مشابهة للأمبورتينات، تسمى

الإكسبورتينات (المصدِّرات: Exportins) تشترك في تصدير (ترحيل) العديد من الجزيئات الكبيرة خارج النواة. وتحمل جزيئات الشحن الخاصة بالتصدير إشارات تصدير نووية (Nuclear export signals;NESs). كما تسهم بروتينات الـ Ran في هذه العملية أيضاً، ويبدو أنه من المرجح أن تتشارك عمليات التوريد والتصدير بملامح مشتركة.

تنجم معظم حالات متلازمة زيلويجر عن طفرات في الجينات المرمزة للبروتينات المشاركة في توريد بروتينات الجسيمات البيروكسية:

الجسيم البيروكسي (Peroxisome) عضي مهم يسهم في مظاهر أيض العديد من الجزيئات، التي تشمل الأحماض الدهنية والشحميات الأخرى (كالبلازمالوجينات والكولسترول والأحماض الصفراوية)، والبورينات والأحماض الأمينية، والبيروكسيد الهيدروجيني. ويحوي كل جسيم بيروكسي حوالي 50 إنزيماً، حيث يعد كل من الكاتالاز وأكسيداز اليورات (اليوريا) من الإنزيمات الواسمة لهذا العضي (انظر الفصل 2). وقد درست سبل توريد عدد من بروتيناته وإنزيماته، حيث بعضها هي مكونات في المطرس وبعضها الآخر هي مكونات غشائية. وتم اكتشاف اثنين على الأقل من تسلسلات التهديف لمطرس الجسيمات البيروكسية (PTSs). أولهما PTS_1، وهو ببتيد ثلاثي (أي مؤلف من سيرين ـ ليسين ـ لوسين، لكن تم تحديد الاختلافات عن هذا التسلسل أيضاً) يتوضع على النهاية الكربوكسيلية لعدد من بروتينات المطرس. والثاني PTS_2 المؤلف من 26-36 حمضاً أمينياً تقريباً، وعثر عليه في أربعة بروتينات مطرسية على الأقل، وخلافاً لـ PTS_1، فهو ينشطر بعد دخوله إلى المطرس. وتتوضع مستقبلات البروتينات الموردة (الداخلة) على غشاء الجسيم البيروكسي، وتوجد أيضاً البروتينات الداخلية المساهمة في نقل البروتينات للمطرس. وتبين أن معظم بروتينات أغشية الجسيمات البيروكسية لا تحوي أياً من تسلسلي التهديف المشار إليهما أعلاه، لكنها تحوي تسلسلات أخرى. والأمر المثير هو أن الجسيمات البيروكسية تستطيع، بكل وضوح، توريد قليلات مواحيد (قليلات

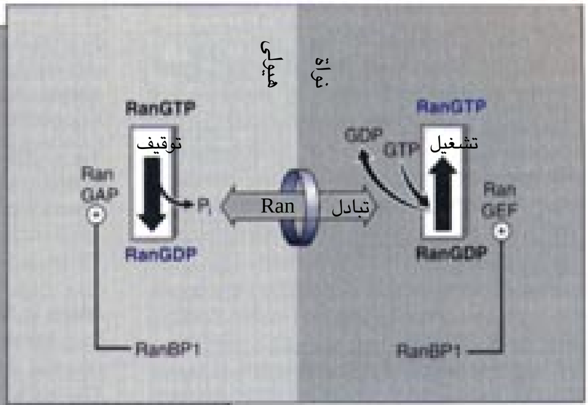
قسيمة) سليمة (مثل الكاتالاز رباعي المواحيد)، إما عبر المسام الغشائية أو بعملية الالتقام (Endocytosis).

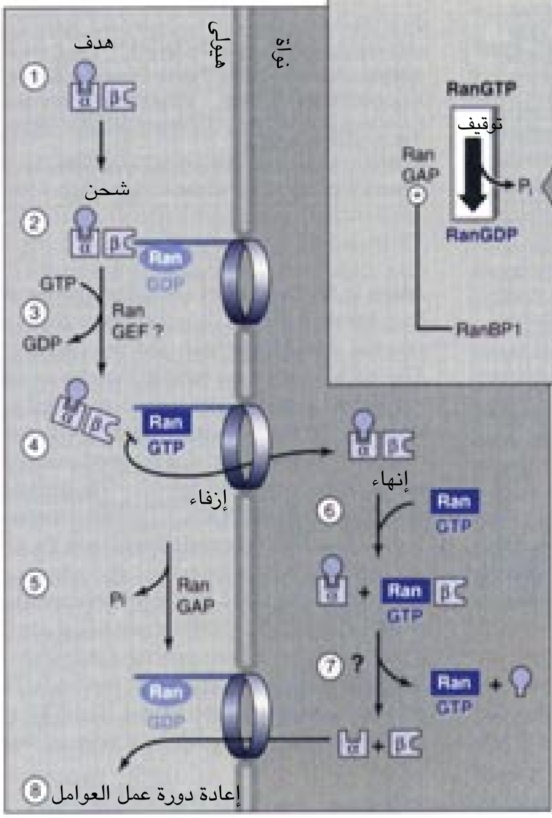
لقي الاهتمام حول توريد البروتينات لداخل الجسيمات البيروكسية دفعاً للأمام من خلال الدراسات المجراة على متلازمة زيلويجر (Zellweger S.) وغيرها من الأمراض ذات الصلة، الناجمة عن شذوذات في بروتينات أو إنزيمات الجسيمات البيروكسية. تظهر متلازمة زيلويجر عند الولادة؛ وتتميز بوجود اضطراب عصبي عميق، وغالباً ما يموت المصابون بها خلال عام. قد أظهرت الدراسات باستخدام المجهر الالكتروني أن الجسيمات البيروكسية تكون مفقودة فعلياً عند المرضى بهذه المتلازمة، مع أنه يمكن الكشف عن البروتينات الغشائية باستعمال تقانات مناسبة. وتتضمن المعطيات الكيميائية الحيوية تراكم أحماض دهنية ذات سلاسل طويلة جداً وشذوذات في تخليق الأحماض الصفراوية، وتناقصاً واضحاً بالبلازمالوجينات. ويعتقد أن هذه الحالة ناجمة عن طفرات في الجينات المرمزة لبروتينات معينة ـ تسمى البيروكسينات (Peroxins) تسهم في خطوات متعددة من النشوء الحيوي (Biogenesis) للجسيم البيروكسي (كتوريد البروتينات المشروح سابقاً)، أو في جينات المورثات المرمزة لبعض إنزيمات الجسيمات البيروكسية بحد ذاتها. وهناك حالتان على صلة وثيقة بالمتلازمة هما: حثل الكظر والمادة البيضاء الوليدي (Neonatal adrenoleukodystrophy) وداء رفسوم الطفلي (Infantile Refsum disease). تتمثل متلازمة زيلويجر وهاتان الحالتان بطيف من الملامح المتداخلة، على أن متلازمة زيلويجر هي الأكثر وخامة (العديد من البروتينات يكون معيباً هنا)، في حين أن داء رفسوم الطفلي هو الأقل وخامة (بروتين واحد فقط أو القليل جداً يكون معيباً هنا). ويحظى تحليل كل من الإنزيمات المختلفة في الجسيمات البيروكسية، والبروتينات الغشائية، والآليات المشاركة في توريد البروتينات للجسيمات البيروكسية بأهمية بالغة في إيضاح أساس هذه الأمراض وعدد من الأمراض الأخرى (انظر الجدول 43-4) الناجمة عن شذوذات في وظيفة الجسيمات البيروكسية.

تفسر فرضية الإشارة كيف ترتبط عديدات الريباسات بالشبكة الهيولية الباطنية:

كما أشرنا أعلاه، يعد فرع الشبكة الهيولية الباطنية (ER) الخشنة، الثاني من بين الفرعين المشاركين في تخليق البروتينات وفرزها. حيث يتم في هذا الفرع تخليق البروتينات على عديدات الريباسات المرتبطة بالأغشية، ثم يتم إزفاؤها إلى تجويف ERالخشنة قبل أن يطرأ عليها فرز إضافي (الشكل 43-11). وضع الباحثان بلوبل (Blobel) وساباتيني (Sabatini) فرضية الإشارة لتوضيح كيف يتم، ولو جزئياً، التمييز بين عديدات الريباسات الحرة والمرتبطة بالأغشية. وقد وجدا أن البروتينات التي تم تخليقها على عديدات الريباسات المرتبطة بالأغشية كانت تحوي امتداداً ببتيدياً (ببتيد إشاري Signal peptide) عند نهاياتها الأمينية التي تتوسط ارتباطها بأغشية الـ ER. وكما هو ملاحظ مما سبق، إن البروتينات التي يجري تخليقها التام على عديدات الريباسات الحرة تفتقد لهذا الببتيد الإشاري. والوجه المهم لفرضية الإشارة كان بالاقتراح القائل ـ واتضح أنه السبب ـ إن كل الريباسات تمتلك البنية ذاتها، وإن التمييز بين الريباسات الحرة والمرتبطة بالأغشية يتوقف فقط على بروتينات الحمل السابقة التي فيها ببتيدات إشارية. وتم التأكيد على الفرضية الأصلية بتوافر المزيد من الدلائل عليها. فبسبب أن العديد من البروتينات الغشائية يتم تخليقهاعلى عديدات الريباسات المرتبطة بالأغشية، فإن فرضية الإشارة تلعب دوراً مهماً في مفاهيم تجميع الأغشية. ويوجز (الجدول 43-5) بعض مميزات الببتيدات الإشارية.

يبين (الشكل 43-13) الملامح الأساسية بالنسبة لمرور البروتين المُفرَز خلال أغشية الـ ER. ويتضمن ملامحاً من فرضية الإشارة الأصلية ومن المستجدات اللاحقة. إن mRNA الخاص بمثل هذا البروتين يُرَمِّز الببتيد الإشاري ذي النهاية الأمينية [الذي يطلق عليه تسميات مختلفة: التسلسل القيادي، أو إشارة الانغراز العابرة (المؤقتة)، أو التسلسل الإشاري، أو التسلسل التمهيدي (الطليعي)]. وتقترح فرضية الإشارة أن البروتين ينغرز بأغشية الـ ER بالوقت نفسه الذي يترجم فيه mRNA الخاص به على عديدات الريباسات، بعملية تسمى انغراز الترجمة المشارك.





الشكل 43-12 : تمثيل تخطيطي للدور المفترض لبروتينات الـ Ran في توريد الحمولة التي تحمل إشارة NLS (1) . يتشكل المعقد الهدف عندما يقوم مستقبل NLS (α إمبورتين) بربط حمولة NLS وعامل الشحن (β). (2) يجري الشحن عند مقرات خيطية تنشأ من الـNPC. وتقوم GDP-Ran بالشحن بشكل مستقل.

(3) يتحرض النقل إلى قناة الإزفاء عندما يقوم Ran GEF بتحويل Ran-GDP إلى Ran-GTP. (4) يُحَفز NPC إزفاء المعقد الهدف. (5) يعاد الـ Ran-GTP إلى Ran-GDP بوساطة Ran-GAP المشحون. (6) يقوم Ran-GTP بتعطيل المعقد الهدف بالارتباط لمقر على β الذي يتداخل مع مقر الارتباط. (7) تتفارق حمولة NLS عن α، وقد يتفارق Ran-GTP عن β. (8) يعود α و β لدورة عمل جديدة للهيولى. يكون إزفاء Ran متوقفاً في الهيولى وجارياً في النواة. ويعزز Ran-GTP الإزفاء المباشر لـ NLS و NES. إلا أنه يكون Ran الهيولي غنياً بالـ Ran-GDP (متوقف) بوساطة Ran-GAP النشيط، وتكون الجميعات النووية غنية بالـ Ran-GTP (بالعمل) بوساطة GEFالنشيط. ويحرض RanBP1 الفعاليات المتضادة لهذين العاملين. ويجرى ارتباط مباشر بين جميعات Ran النووية والهيولية من خلال NPC بوساطة آلية مكوكية غير معروفة.

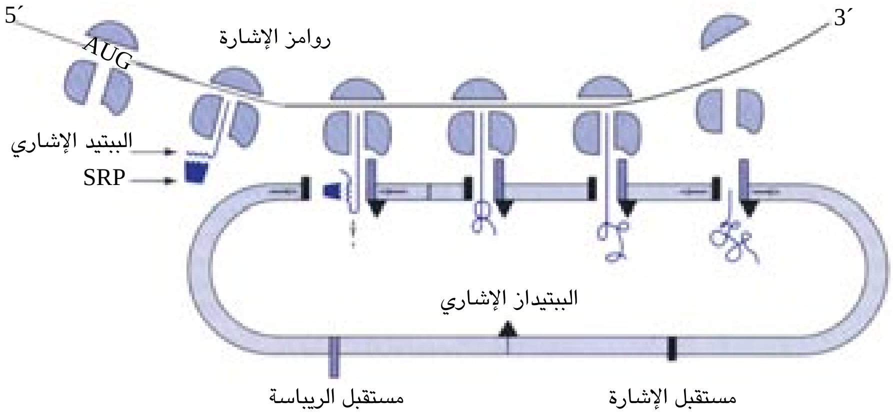
Pi: فسفات لاعضوية؛ NLS: إشارة التوضع النووية؛ NPC: معقد المسام النووي؛ GEF: عامل تبادل نوكليوتيد الجوانين؛ GAP: البروتين المنشط للجوانين؛ NES: إشارة التصدير النووية؛ Bp: بروتين الارتباط.

	رقم الـ MIM (1)
متلازمة زيلويجر	214100
حثل الكظر والمادة البيضاء الوليدي	202370
داء رفسوم الطفلي	266510
إحمضاض الدم بفرط حمض البيبيكولي (Hyperpipecolic acidemia)	239400
ثدن غضروفي مفصلي منقط (Rhizomelic chondrodysplasia punctata)	215100
حثل الكظر والمادة البيضاء	300100
حثل الكظر والمادة البيضاء الوليدي الكاذب	264470
متلازمة زيلويجر الكاذبة	261510
فرط الاكسالات في البول النمط 1	259900
غياب الكاتالاز من الدم	115500
عوز أكسيداز الجلوتاريل -CoA	231690

الجدول 43-4 : الاضطرابات الناجمة عن الشذوذات في الجسيمات البيروكسية.
(1) - MIM = الوراثة المندلية عند الإنسان. يدل كل رقم على مرجع توجد فيه معلومات تختص بكل حالة من الحالات الموجودة في الجدول.

* تتوضع عادة، وليس دائماً، عند النهاية الأمينية
* تحوي 12-32 حمضاً أمينياً تقريباً.
* الميثيونين هو الحمض الأميني الموجود عادة في النهاية الأمينية
* تحوي مجموعة مركزية من الأحماض الأمينية الكارهة للماء
* تحوي حمضاً أمينياً واحداً على الأقل ذا شحنة إيجابية قرب نهايتها الأمينية.
* تنشطر عادة عند النهاية الطرفية الكربوكسيلية لثمالة ألانين بوساطة الببتيداز الإشارية.

الجدول 43-5 : بعض خصائص الببتيدات الإشارية.



الشكل 43-13: مخطط يوضح فرضية الإشارة المتعلقة بنقل البروتينات المفرزة عبر أغشية الـ ER. تتحرك الريباسات التي تقوم بتخليق بروتين ما على طول RNA المرسال الذي يحدد نوعية تسلسل الأحماض الأمينية بالبروتين. (تم تمثيل المرسال بخط بين 5´ و 3´) وتشير الرامزة AUG إلى بداية الرسالة الخاصة بالبروتين؛ وتدل الخطوط المظللة التي تلي AUG على روامز التسلسل الإشاري. في حين ينمو البروتين خارجاً من الوحيدة الريباسية الأكبر، يكون التسلسل الإشاري مكشوفاً ومرتبطاً بجسيم تعريف الإشارة (SRP). ويجري إحصار الترجمة إلى حين ارتباط المعقد «بالبروتين الشاحن»، المشار إليه أيضاً بـ SRP-R (الممثل في الشكل بخط غير منقطع) على غشاء الـ ER. ويوجد أيضاً مستقبل (خط منقطع) خاص بالريباسة بحد ذاتها. ويؤدي تآثر الريباسة والسلسلة الببتيدية النامية مع غشاء ER إلى انفتاح القناة التي ينْقل البروتين من خلالها إلى الفراغ الداخلي للـ ER. ويجري أثناء النقل إزالة التسلسل الإشاري من معظم البروتينات بوساطة إنزيم يسمى «الببتيداز الإشاري»، المتوضع عند سطح تجويف غشاء الـ ER. ويتحرر في النهاية البروتين الكامل عن طريق الريباسة، التي تنفصل بعد ذلك إلى مكونيها، أي إلى الوحيدتين الريباسيتين الصغيرة والكبيرة. وينتهي البروتين في داخل الـ ER. ولمزيد من التفاصيل راجع النص.

وحالما يبرز الببتيد الإشاري من الوحيدة الكبيرة للريباسة يتم التعرف عليه بوساطة جسيم التعريف الإشاري (Signal recognition particle;SRP) الذي يمنع حدوث المزيد من الترجمة بعد أن تتم كوثرة (بلمرة) نحو 70 حمضاً أمينياً (40 منها منطمراً في الوحيدة الريباسية الكبيرة والـ 30 الباقية مكشوفة). ويسمى هذا الإحصار بتوقف الإطالة (Elongation arrest) ويحوي الـ SRP ستة بروتينات ويملك RNA طوله 7S مرتبط به ويكون على صلة وثيقة بفصيلة ALU من تسلسلات الـ DNA المتكررة جداً (الفصل 38). ولا ينتهي الإحصار الذي يفرضه الـ SRP إلا عندما يرتبط معقد [عديد الريباسات ـ الببتيد الإشاري ـ SRP] مع ما يسمى بروتين الإرساء (SRP-R أي مستقبل خاص بـ SRP) على غشاء الـ ER، وبذلك فإن SRP يوجه الببتيد الإشاري نحو الـ SRP-R ويمنع انثناء البروتين السابق لأوانه واندفاعه للعصارة الخلوية حال تخليقه.

إن SRP-R بروتين غشائي متمم مؤلف من الوحيدات ألفا α وبيتا β. حيث ترتبط الوحيدة α بالـ GDP. وعندما يتآثر معقد ببتيد إشاري – SRP مع المستقبل، يتنبه تبديل الـ GDPبالـ GTP. ويتميز هذا الشكل من المستقبل (المرتبط مع GTP) بألفة عالية تجاه الـ SRP، لذلك فهو يحرر الببتيد الإشاري، الذي يرتبط بآلية الإزفاء (ترانس لوكون Translocon؛ تبديل الموقع)، الموجودة أيضاً في أغشية الـ ER. ثم تقوم الوحيدة α بحلمهة الـ GTP المرتبط بها، فتستعيد الـ GDP وتستكمل بذلك دورة GDP-GTP. ولأن هذه الدورة أحادية الاتجاه فإن ذلك يساعد على توجيه تآثر عديد الريباسات وببتيده الإشاري مع أغشية الـ ER، وذلك نحو الأمام.

يتألف الترانس لوكون من عدد من البروتينات الغشائية التي تشكل قناة لتوصيل البروتين في غشاء الـ ER، التي يمكن أن يمر خلالها البروتين الذي يتم خليقه حديثاً. ويبدو أن هذه القناة تفتح فقط عندما يكون البروتين الإشاري موجوداً، وهذا يصون التوصيل عبر أغشية الـ ER عندما تنغلق القناة. وقد تم قياس التوصيل خلال القناة تجريبياً. يطلق على عملية انغراز الببتيد الإشاري في قناة التوصيل، في الوقت الذي ما تزال فيه النهاية الأخرى من البروتين الأصلي (أي عملية الترجمة مستمرة) مرتبطة بالريباسات، الانغراز المشارك في أثناء الترجمة. ومن المرجح أن تقوم عملية إطالة الجزء المتبقي من البروتين بتسهيل مرور البروتين الناشئ (الوليد)

خلال الطبقة المضاعفة الشحمية طالما تبقى الريباسات مرتبطة بأغشية الـ ER. فتتشكل بهذا الشكل الشبكة الهيولية الباطنية الخشنة (أو «المرصعة» بالريباسات). ومن المهم أن نذكر هنا أن البروتين يجب أن يبقى في الحالة غير المتطوية قبل دخوله إلى قناة التوصيل، حيث أنه بخلاف ذلك قد لا يكون قادراً على الوصول إليها.

تبقى الريباسات مرتبطة بالـ ER أثناء تخليق البروتينات المحتوية ببتيداً إشارياً، لكنها تتحرر وتتفارق إلى وحيداتها ثنائية النمط عندما تكتمل العملية. ويحلمه الببتيد الإشاري بوساطة إنزيم الببتيداز الإشارية المتوضع على جهة التجويف من أغشية الـ ER (الشكل 43-13)؛ ولم يتم التحقق بعد من مصيره الدقيق، لكنه على الأغلب يتدرك بسرعة بوساطة إنزيمات البروتياز.

تبين أن العديد من بروتينات أغشية الـ ER تتآثر بشكل نوعي مع الريباسات. وهي تشمل الريبوفورينات I و II (ribophorins) و الـ (Sec61P)، وهو مكون مهم في جملة الترانس لوكون، ويبدو أنه المقر الرئيسي للارتباط بالريباسة.

لا يعبر السيتوكروم P_{450} (الفصل 61)، وهو بروتين اندماجي بأغشية الـ ER، الغشاء بشكل تام. لكنه بالمقابل يستقر في الغشاء مع ببتيده الإشاري الكامل السليم. ويمنع عبوره خلال الغشاء بوساطة تسلسل أحماض أمينية يسمى إشارة إيقاف النقل.

تقوم البروتينات الإفرازية والبروتينات المخصصة للأغشية البعيدة عن ER بعبور الطبقة المضاعفة الغشائية بشكل كامل وتُفرغ شحنتها في تجويف الـ ER. وتضاف إليها سلاسل *N*– جليكان (الفصل 56)، إن وجدت، وذلك حينما تعبر هذه البروتينات القسم الداخلي من غشاء الـ ER– وتسمى هذه العملية إدخال الجليكوزيل (أو انضمامه) (Gycosylation) أثناء الترجمة. وينتج عن ذلك، أن البروتينات تكون متوضعة في تجويف جهاز جولجي، حيث تجري هناك تبدلات إضافية في سلاسل الجليكان (الشكل 56-9) قبل أن تتوزع أو تفرز داخل الخلية. ويتوافر دليل قاطع على أن الببتيد الإشاري يشترك في عملية انغراز البروتين في أغشية الـ ER. أما البروتينات الطافرة، التي تحوي ببتيدات إشارية متغيرة جرى فيها استبدال الأحماض الأمينية الكارهة للماء بأخرى محبة للماء، فإنها لا تنغرز بأغشية الـ ER. ويمكن للبروتينات غير الغشائية (مثل α–جلوبين)، التي يربط بها

ببتيدات إشارية عن طريق الهندسة الوراثية، أن تنغرز في تجويف الـ ER أو أن تفرز.

يوجد دليل حاسم على أن المركب الثاني الينقول (Transaposon) الذي يغير الموضع في غشاء الـ ER يشترك في النقل الرجوعي (Retrograde Transport) للعديد من الجزيئات من تجويف الـ ER إلى العصارة الخلوية. وتشمل هذه الجزيئات البروتينات السكرية غير المطوية أو المطوية عشوائياً، والببتيدات السكرية وقليلات سكريد، وبالتالي يوجد مرور ثنائي الإتجاه عبر أغشية الـ ER.

تتبع البروتينات طرقاً متعددة لتنغرز أو لترتبط بأغشية الشبكة الهيولية الباطنية

تتضمن الطرق التي تتبعها البروتينات لكي تنغرز في أغشية الـ ER ما يلي:

1 – الانغراز أثناء الترجمة: يعرض (الشكل 43-8) أنواع الطرق التي تترتب وفقها البروتينات في الغشاء البلازمي. ويمكن بشكل خاص رؤية النهايات الأمينية لبعض البروتينات (مثل مستقبل LDL) على الوجه خارج الهيولى، في حين تكون النهايات الكربوكسيلية لبروتينات أخرى (مثل مستقبل البروتين السكري غير السيالي) هي المتوضعة على هذا الوجه. ولتفسير هذه التوضعات يجب النظر ملياً بالأحداث الأولية للتخليق الحيوي عند أغشية الـ ER. يدخل مستقبل الـ LDL لغشاء الـ ER بأسلوب يشابه دخول البروتين الإفرازي (الشكل 43-13)؛ وهو يجتاز غشاء الـ ER جزئياً، وينشطر ببتيده الإشاري، أما نهايته الأمينية فتبرز في تجويف الـ ER إلا أنه يحتجز في الغشاء لأنه يحوي قطعة كارهة جداً للماء هي إشارة توقف أو إيقاف النقل. ويشكل هذا التسلسل قطعة من البروتين مستقلة عابرة للغشاء تمثل منطقته التي ترتبط بالغشاء. وتتبرعم (تظهر) اللويحة الصغيرة من غشاء الـ ER التي يتوضع فيها مستقبل الـ LDL المتخلق حديثاً بالتدريج كمكون لحويصل ناقل، على الأرجح من العناصر الانتقالية (المتحولة) في الـ ER (الشكل 34-11). وكما ذكرنا أعلاه لدى مناقشة لاتناظر البروتينات والشحميات عند بناء الأغشية، يتم الحفاظ على توضع المستقبل في أغشية الـ ER ضمن حويصل يذوب في النهاية مع الغشاء البلازمي.

وعلى العكس من ذلك، يمتلك مستقبل البروتين السكري غير السيالي (Asialoglycoprotein receptor) تسلسلاً مخصصاً للانغراز الداخلي، والذي ينغرز في الغشاء لكنه لا ينشطر. ويعمل هذا التسلسل «كمرساة»، حيث تنبثق (تندفع للخارج) نهايته الكربوكسيلية من خلال الغشاء. ويمكن تفسير التوضع الأكثر تعقيداً للنواقل (Transporters) (كناقل الجلوكوز) بالحقيقة القائلة بأن الحلزونات α– المتعاقبة العابرة للغشاء تعمل كتسلسلات انغراز غير منشطرة وكإشارات إيقاف النقل على التوالي. وينغرز كل زوج من القطع الحلزونية على شكل دبوس الشعر. ويطلق على التسلسلات التي تحدد بنية بروتين ما في الغشاء تسمية التسلسلات المكونة للموضع (Topogenic). وكما أسلفنا من تفسير لإحداثيات (الشكل 43-8)، تعد البروتينات الثلاث المذكورة أعلاه أمثلة عن البروتينات العابرة للغشاء من الأنماط I وII و III.

2 – التخليق على عديدات الريباسات الحرة والارتباط اللاحق بغشاء الشبكة الهيولية الباطنية: ومن الأمثلة نذكر السيتوكروم b_5 الذي يدخل تلقائياً لأغشية الـ ER.

3– استبقاء البروتينات عند وجه تجويف الشبكة الهيولية الباطنية بوساطة تسلسلات نوعية من الأحماض الأمينية: يمتلك عدد من البروتينات تسلسل KDEL المؤلف من الأحماض الأمينية (لوسين ـ جلوتامات ـ أسبارتات ـ ليسين) عند نهايتها الكربوكسيلية. وتنطوي نوعية هذا التسلسل بأنه يمكن مثل هذه البروتينات لأن ترتبط بالوجه الداخلي لـ ER بشكل رخو نسبياً. ونذكر من هذه البروتينات الشابيرون BiP (انظر لاحقاً). وفي الواقع، ترحل البروتينات الحاوية KDEL إلى جهاز جولجي أولاً، حيث تتآثر هناك مع بروتين نوعي مستقبل لـ KDEL ، ثم تعود ضمن حويصلات إلى الـ ER حيث تتفارق عن المستقبل.

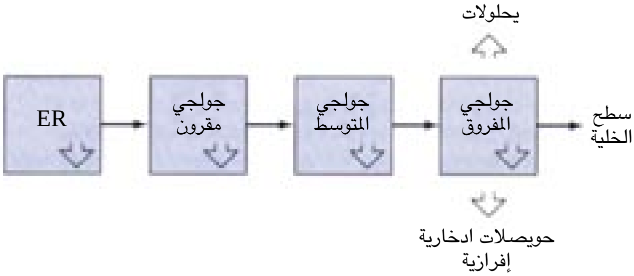
4 – النقل الرجوعي (Retrograde) من جهاز جولجي: إن بعض البروتينات الأخرى غير الحاوية KDEL والمخصصة لأغشية الـ ER تمر أيضاً إلى جهاز جولجي ومن ثم تعود، بوساطة النقل الحويصلي الرجوعي، إلى الـ ER لتنغرز فيها.

تبين الفقرات السابقة أن طرقاً متنوعة تشترك في تجميع بروتينات أغشية الـ

ER؛ وتوجد على الأرجح حالة شبيهة بذلك تختص بالأغشية الأخرى (مثل الأغشية المتقدرية والغشاء البلازمي). وقد تم تحديد الهوية الدقيقة لتسلسلات التهديف في بعض الحالات (مثل تسلسلات KDEL). كما تبين أن الأعمار النصفية لشحميات أغشية الـ ER في كبد الجرذ تكون أقصر عموماً من تلك التي للبروتينات، بحيث أن معدلات تقلب الشحميات والبروتينات تكون مستقلة عن بعضها بعضاً. وبالفعل، وجد أن الشحميات المختلفة تبدي أعماراً نصفية مختلفة أيضاً. وعدا عن ذلك، تختلف الأعمار النصفية لبروتينات هذه الأغشية بشكل واسع جداً، فلبعضها أعمار نصفية قصيرة (ساعات) وطويلة للأخرى (أيام). وعلى هذا الشكل، يبدو واضحاً أن الشحميات والبروتينات المستقلة في أغشية الـ ER تنغرز فيها بشكل مستقل نسبياً كل واحد عن الآخر.

تتحرك البروتينات عبر الأحياز الخلوية باتجاه الأغشية النوعية:

يوضح المخطط المعروض في (الشكل 43-14) اتجاه الجريان المحتمل للبروتينات الغشائية على الطريق من ER (الشبكة الهيولية الباطنية) ← جهاز جولجي ← الغشاء البلازمي. حيث تدل الأسهم الأفقية على خطوات النقل التي قد تكون مستقلة عن إشارات التهديف، في حين تمثل الأسهم المفتوحة العمودية الخطوات المعتمدة على إشارات نوعية. ويتحقق بذلك،على الأرجح، جريان بعض البروتينات الغشائية من الـ ER إلى الغشاء البلازمي (المشار إليه بجريان الكتلة حيث إنه غير انتقائي) دونما الحاجة لاشتراك أي تسلسلات تهديف، أي يتم الجريان بشكل افتراضي. من جهة أخرى، يعتمد انغراز البروتينات القاطنة في الـ ER وجهاز جولجي على إشارات نوعية (مثل KDEL أو تسلسلات إيقاف النقل بالنسبة للـ ER). وعلى غرار ذلك، يعتمد نقل العديد من الإنزيمات إلى الجسيمات الحالة على إشارة مان 6-P (Man6-P) (الفصل 56)، وهناك إشارة أخرى قد تشترك في إدخال البروتينات إلى الحبيبات الإفرازية. ويوجز (الجدول 43-6) معلومات عن التسلسلات المعروف بأنها تشترك في تهديف بروتينات مختلفة إلى مواقعها الصحيحة داخل الخلية.



الشكل 43-14 : تدفق البروتينات الغشائية من الشبكة الهيولية الباطنية (ER) إلى السطح الخلوي. تشير الأسهم الأفقية للخطوات التي من المفترض أنها مستقلة عن الإشارة، وبذلك فهي تمثل معظم التدفق. وتدل الأسهم العمودية المفتوحة في الصناديق إلى احتباس البروتينات التي تبقى في أغشية العضي المنوه عنه. وتشير الأسهم المفتوحة خارج الصناديق إلى النقل المتواسط بالإشارة إلى اليحلولات والحبيبات الادخارية الإفرازية.

تسلسل التهديف أو المركب	**العضي** المستهدف
التسلسل الببتيدي الإشاري	أغشية الـ ER
KDEL بالطرف الأميني، تسلسل (ليسين ـ أسبارتات ـ جلوتامات ـ لوسين)	السطح التجويفي من الـ ER
التسلسل بالطرف الأميني (منطقة من 70 ثمالة)	المتقدرة
NLS[1] (أي برولين 2– ليسين 4– ألانين – ليسين ڤالين	النواة
PTS[1] (أي سيرين – ليسين – لوسين)	الجسيم البيروكسي
مانوز – 6 – فسفات	الجسيم الحال

الجدول 43-6 : بعض التسلسلات أو المركبات التي توجه البروتينات نحو العضيات النوعية

NLS[1] : إشارة التوضع النووية؛ PTS : تسلسل التهديف للمطرس والجسيمات البيروكسية.

المرافقات (الشابيرونات) هي بروتينات تمنع حدوث التطوي الخاطئ للبروتينات الأخرى وتآثراتها غير الناجعة:

قد يكون الخروج من الـ ER هو الخطوة ذات السرعة المحدودة في السبيل الإفرازي. فقد تبين، في هذا الشأن، أن بروتينات معينة تقوم بدور ما في عملية تجميع بروتينات أخرى أو بتطويتها الملائمة دون أن تكون تلك البروتينات بحد ذاتها مكونات في هذه الأخيرة. ويطلق على مثل هذه البروتينات تسمية المرافقات (الشابيرونات) الجزيئية؛ ويبين (الجدول 43-7) عدداً من الخصائص المهمة لهذه البروتينات، كما يعرض (الجدول 43-8) تسميات بعض منها، والتي تحظى بأهمية خاصة في الـ ER. وهي تقوم بشكل أساسي بتثبيت المتوسطات غير المتطوية أو المتطوية جزئياً، بحيث تسمح لها بالتطوي بشكل مناسب لبعض الوقت، كما تمنع حدوث التآثرات غير الملائمة، فتقف بذلك ضد تشكيل البنى غير الوظيفية. وتبدي معظم المرافقات فعالية أتباز ATP وهي تربط كلاً من ADP و ATP. وتكون هذه الفعالية مهمة في تأثيرها على عملية التطوي. وغالباً ما يتمتع معقد مرافق -ADP بألفة عالية تجاه البروتين غير المتطوي، الذي يقوم، عندما يرتبط، بتنبيه تحرير الـ ADP مع استبداله بالـ ATP. ويقوم معقد ـ ATP مرافق بدوره بتحرير قطع من البروتين الذي قد تطوى بشكل مناسب، وتتضمن هذه الدورة ارتباط ADP و ATP، وتتكرر لحين تحرر البروتين المتطوي.

لقد واجهنا أمثلة عديدة على المرافقات عندما ناقشنا عملية فرز البروتينات المتقدرية سابقاً. فالبروتين الرابط للسلسلة الثقيلة في الجلوبين المناعي (BIP) يكون متوضعاً في تجويف الـ ER، وهو يربط السلاسل الثقيلة في الجلوبلينات المناعية المتطوية على نحو غير سوي، وكذلك بروتينات معينة أخرى، فيمنعها من مغادرة الـ ER حيث تخضع هنا للتدرك. وهناك مرافق آخر ذو أهمية هو الكالنكسين وهو بروتين يربط الكلسيوم ويتوضع في غشاء الـ ER، يربط عدداً كبيراً ومتنوعاً من البروتينات، بما فيها مستضدات التوافق النسيجي المختلطة (MHC) وأنواع مختلفة من البروتينات المصلية. وكما ذكرنا في (الفصل 56)، يربط الكالنكسين الأنواع

أحادية الجلوكوزيل من البروتينات السكرية التي توجد أثناء معالجة البروتينات السكرية، مستبقياً إياها في الـ ER لحين استكمال تطوي البروتين السكري بشكل مناسب. أما الكالريتيكولين، وهو أيضاً بروتين رابط للكالسيوم، فيتمتع بخصائص مشابهة لتلك التي للكالنكسين. والمرافقات هي ليست البروتينات الوحيدة في تجويف الـ ER التي تكون على صلة وثيقة بالتطوي الملائم للبروتينات. فهناك إنزيمان يلعبان دوراً فعالاً في التطوي هما: مصاوغ البروتين ثنائي السلفيد (PDI) الذي يحرض إعادة الترتيب السريع للروابط ثنائية السلفيد حتى يتم التوصل للترتيب الصحيح. والإنزيم الثاني هو مصاوغ ببتيديل البروليل (PPI) الذي يسرع تطوي البروتينات الحاوية على حمض البرولين بتحفيز التصاوغ مقرون ـ مفروق للروابط X – برولين، حيث X هي ثمالة أي حمض أميني آخر.

* توجد بعدد كبير من الأنواع بدءاً من الجراثيم وحتى الإنسان.
* يطلق على العديد منها تسمية بروتينات الصدمة الحرارية (HSP).
* بعضها قابل للتحريض بفعل الظروف التي تسبب عدم تطوي البروتينات التي تم تخليقها للتّو (مثل ارتفاع درجة الحرارة والمواد الكيميائية المختلفة).
* ترتبط بالمناطق الكارهة للماء من البروتينات غير المتطوية والمتكدسة.
* تعمل جزئياً كمراقب لحسن الإنجاز أو كآلية تسهل كشف البروتينات المعيبة نوعاً ما أو المتطوية بشكل خاطئ.
* تبدي معظم المرافقات فعالية أتيباز ATP، مع مساهمة إما ATP أو ADP في التآثر بين البروتين والمرافق
* عثر عليها في العديد من الأحياز الخلوية مثل العصارة الخلوية والمتقدرات وفي تجويف الشبكة الهيولية الباطنية.

الجدول 43-7 : بعض خصائص البروتينات المرافقة

* BiP (البروتين الرابط للسلسلة الثقيلة في الجلوبلين المناعي).
* GRP94 (البروتين المنظم للجلوكوز).
* الكالِنكسين (Calnexin).
* الكالريتيكولين (Calreticulin).
* PDI (مصاوغ البروتين ثنائي السلفيد).
* PPI (مصاوغ ببتيديل بروليل مقرون ــ مفروق).

الجدول 8-43 : بعض المرافقات والإنزيمات المشتركة في عملية التطوي، والتي تتوضع في الشبكة الهيولية الباطنية الخشنة.

حويصلات النقل هي العناصر المنفذة الأساسية في عملية مرور البروتينات داخل الخلية:

إن أغلب البروتينات التي يتم تخليقها على عديدات الريباسات المرتبطة بالأغشية وتلك المخصصة لجهاز جولجي أو للغشاء البلازمي تصل لهذه المواقع وهي ضمن حويصلات النقل. وغير لم تعرف بعد الآليات الدقيقة التي يتم من خلالها انغراز البروتينات، التي يتم تخليقها في الـ ER الخشنة، ضمن هذه الحويصلات. حيث أن الآليات المشاركة في النقل إلى جهاز جولجي ومن جهاز جولجي إلى الغشاء البلازمي لا تتضمن الكلاثرين بشكل رئيسي، وذلك خلافاً للحويصلات المغطاة المشتركة في الالتقام (Endocytosis) (انظر مناقشة مستقبل LDL في الفصل 28). ولمزيد من التوضيح، نذكر أن الحويصلات غير المغطاة بالكلاثرين تعرف في هذا النص بحويصلات النقل. ويتوافر دليل على أن البروتينات المخصصة لأغشية جهاز جولجي تمتلك تسلسلات إشارية نوعية. من جانب آخر، يبدو أن أغلب البروتينات المخصصة للغشاء البلازمي أو للإفراز لا تحوي إشارات نوعية، وتصل مواقعها الخاصة عن طريق المصادفة.

يشترك جهاز جولجي في إدخال الجليكوزيل والبروتينات وإفرازها:

يلعب جهاز جولجي دورين مهمين في إنشاء الأغشية. الأول: اشتراكه في معالجة سلاسل قليلات السكريد في الغشاء وفي البروتينات السكرية الأخرى المرتبطة – N كما يحوي أيضاً الإنزيمات المساهمة في إدخال الجليكوزيل –O (انظر الفصل 56). والدور الثاني هو مساهمته في إفراز البروتينات المختلفة قبل توزيعها إلى مقراتها المخصصة داخل الخلية. حيث تسهم كل أجزاء جهاز جولجي في إنجاز الدور الأول، في حين يشترك جولجي المفروق بشكل خاص في إنجاز الدور الثاني، وهو غني جداً بالحويصلات. وبسبب الدور المركزي لحويصلات النقل في إنجاز نقل البروتينات، فإن أبحاثاً كثيرة ومهمة قد أجريت في السنوات الأخيرة وتركزت على آلية تشكل حويصلات النقل ومصيرها.

يتضمن نموذج الحويصلات غير المغطاة بالكلاثرين البروتينات (SNAREs) وعوامل أخرى:

تتوضع الحويصلات ـ بشكل رئيسي، وليس حصرياً، تلك الحويصلات غير المغطاة بالكلاثرين ـ في مركز نقل العديد من البروتينات داخل الخلية. وقد أحرز تقدم كبير في الفترة الأخيرة في مجال فهم الحوادث المشتركة في تشكيل الحويصلات ونقلها. وذلك بفضل استخدام العديد من الأساليب. والتي تتضمن إنشاء جمل خالية من الخلايا لتتم فيها دراسة آلية تشكل الحويصلات. فعلى سبيل المثال، أصبح من الممكن عن طريق المجهر الإلكتروني مراقبة تبرعم الحويصلات من محضرات جولجي المحضونة مع العصارة الخلوية والـ ATP. وبفضل تطور التقنيات الوراثية حسمت مواضيع عديدة عند دراسة الحويصلات في محضرات الخميرة. لكن تبقى الصورة معقدة بمصطلحاتها وتسمياتها الخاصة (الجدول 43-9)، وتتضمن أنواعاً مختلفة من بروتينات العصارة الخلوية والأغشية وGTP و ATP وعوامل أخرى ثانوية.

يمكن بالاعتماد إلى حد كبير على فرضية روثمان (Rothman) وزملائه، أن نوجز

أحداث عملية النقل الحويصلي المتجه للأمام في ثماني خطوات (الشكل 43-15). حيث يتلخص المفهوم الأساسي في أن كل حويصل ناقل يحمل واسمة لعنوان وحيد، وهي مؤلفة من واحد أو أكثر من بروتينات v-SNARE الناقلة، في حين أن كل غشاء مستهدف يحمل واحداً أو أكثر من بروتينات t-SNARE المتممة والتي تتآثر معها البروتينات السابقة بشكل نوعي.

الخطوة 1: يبدأ تجميع الغلاف عندما يتنشط الـ ARE بارتباطه مع الـ GTP، الذي يستبدل بالـ GDP. ويؤدي هذا إلى ارتباط الـ ARE المرتبط بـ GTP مع مستقبله الافتراضي (المشار إليه في الشكل 43-15) وذلك في الغشاء المانح.

الخطوة 2: يقوم ARF المرتبط بالغشاء باستدعاء بروتينات التغليف التي تحوي الجزء المغلف من العصارة الخلوية، مشكلة بذلك برعم التغليف الغلافي.

الخطوة 3: ينخمص البرعم في عملية تتضمن أسيل -CoA والـ ATP على الأرجح ـ لإتمام تشكيل الحويصل المُغَلَّف (المغطى).

الخطوة 4: يلي انفصال الغلاف (المتضمن افتراق الـ ARF وطبقة القسم المغلف) حلمهة للـ GTP المرتبط، حيث إن إزالة التغليف ضرورية لحدوث الاندماج.

الخطوة 5: ينجز تهديف الحويصلات عن طريق عناصر من مجموعة من البروتينات الاندماجية المسماة v-SNAREs، التي توسم الحويصل خلال تبرعمه. وتقترن الـ v- SNAREs مع الـ t-SNAREs المناسب في الغشاء المستهدف من أجل شحن الحويصل.

يفترض أن الخطوتين 4 و 5 مقترنتان ببعضهما بشكل كبير، وأن الخطوة 4 قد تلي الخطوة 5، مع افتراق ARF والقشرة الغلافية بسرعة بعد إنجاز الشحن.

الخطوة 6: تنضم بعد ذلك آلية الاندماج العامة إلى معقد SNARE المزدوج، وهي تتضمن الأتباز ATPase آز (NSF؛ العامل الحساس لـ (NEM) وبروتينات الـ SNAP عامل الارتباط بـ NSF الذواب). وترتبط جزيئات SNAP بمعقد الـ SNARE مستقبل SNAP، مما يسمح بارتباط الـ NSF.

الخطوة 7: إن حلمهة الـ ATP بوساطة NSF أمر ضروري لإتمام الاندماج، وهي عملية يمكن أن تتثبط بالـ NEM N- (إيثيل ماليميد). كما يحتاج الأمر لوجود الكالسيوم وبروتينات معينة أخرى.

الخطوة 8: يحدث النقل الرجوعي من أجل إعادة بدء الدورة من جديد. وقد تعيد هذه الخطوة الأخيرة إصلاح بعض البروتينات أو تعيد دوران جزيئات v-SNARE. ويثبط النوكودازول (Nocodazole)، وهو عامل مخرب للنبيبات الدقيقة، هذه الخطوة.

* ARF؛ عامل ضم الريبوزيل ـ ADP؛ الـ GTP آز.
* القسم الغلافي (الجزء المغلف) (Coatomer)، وهي فصيلة من سبع بروتينات تغليف على الأقل (هي α ألفا و β بيتا و γ جاما و Δ دلتا و ε أبسولون و b´ و S). حيث تمتلك حويصلات النقل المختلفة مجموعات مختلفة من بروتينات التغليف.
* SNAP :عامل ارتباط NSF الذواب.
* SNARE : مستقبل SNAP.
* SNARE : v-SNARE الحويصلي.
* SNARE :t-SNARE الهدف.
* GTP-g-S : مضاهئ لـ GTP غير قابل للحلمهة، يستخدم لاختبار مدى مساهمة الـ GTP.
* NEM : N – إيثيل ماليميد وهي مادة كيميائية تقوم بألكلة زمر السلفهيدريل.
* NSF : العامل الحساس للـ NEM، الـ ATP آز.
* بروتينات الـ Rab، وهي فصيلة من البروتينات المرتبطة بـ ras تمت ملاحظتها لأول مرة في دماغ الجرذ، وهي إنزيمات الـ GTP آز وتكون نشيطة عندما يتوافر الـ GTP.
*Sec1 : وهو فرد من فصيلة البروتينات التي ترتبط بالـ t-SNAREs ويتم استبدالها بالبروتينات Rab، مما يسمح بحدوث التأثرات بين v-SNARE-t-SNARE.

الجدول 43-9 : العوامل المساهمة في تشكيل الحويصلات غير المغطاة بالكلاثرين ونقلها.

يثبط البرفلدين A عملية التغليف:

توضح النقاط التالية ما ورد أعلاه وتجعله أكثر شمولية:

(1) يجب أن يعدل الـ ARF أولاً لكي يشارك في الخطوة 1، وذلك بإضافة حمض الميريستيك (C14:O)، باستخدام ميريستويل -CoA كمانح للأسيل. وتعد عملية ضم الميريستويل واحدة من التعديلات المحفزة بالإنزيمات والتي تحدث بعد عملية الترجمة، وهي تتضمن إضافة شحميات معينة إلى ثمالات نوعية في البروتينات، وهذا يسهل ارتباط البروتينات بسطوح العصارة الخلوية للأغشية أو للحويصلات. أما عمليات التعديل الأخرى فهي تتضمن ضم البلمتيات الفارنسيل وجيرانيل الجيرانيل؛ حيث أن الجزيئين الأخيرين من عديدات الأيزوبرينويدات الحاوية على 15 و 20 ذرة كربون على الترتيب.

(2) أمكن تمييز أربعة أنماط على الأقل من الحويصلات المغلفة هي: COPI و COPII، ونمطان يحويان الكلاثرين. تساهم الحويصلات COPI في النقل ثنائي الاتجاه من الـ ER إلى جولجي وفي الاتجاه المعاكس، في حين تشترك حويصلات COPII بشكل رئيسي بالنقل في الاتجاه المتقدم (الأول). أما نمطا الحويصلات المحتوية على الكلاثرين فيساهمان في النقل من شبكة جولجي المفروقة إلى طلائع الجسيمات الحالة ومن الغشاء البلازمي إلى الجسيمات الداخلية على التوالي. وفيما يتعلق بانتقاء الحويصلات للجزيئات المشحونة، فيبدو أن هذا وبشكل أساسي وظيفة بروتينات التغليف في الحويصلات. وقد تتآثر الجزيئات المشحونة مع بروتينات التغليف، إما بشكل مباشر أو عن طريق بروتينات متوسطة ترتبط ببروتينات التغليف، وتصبح فيما بعد ضمن حويصلاتها الملائمة.

(3) يمنع المستقلب الفطري البرفلدين A (Brefeldin A) ارتباط الـ GTP بالـ ARF في الخطوة 1، وبذلك يثبط عملية التغليف الكاملة. وبوجوده أيضاً، يبدو أن جهاز جولجي يتفكك وتضيع الأجزاء. ويمكن أن يحدث ذلك بالتثبيط الجزئي المبادل لنوكليوتيد الجوانين المساهم في الخطوة 1.

(4) يقوم GTP-γ-S (وهو مضاهئ للـ GTP غير قابل للحلمهة يستخدم غالباً في

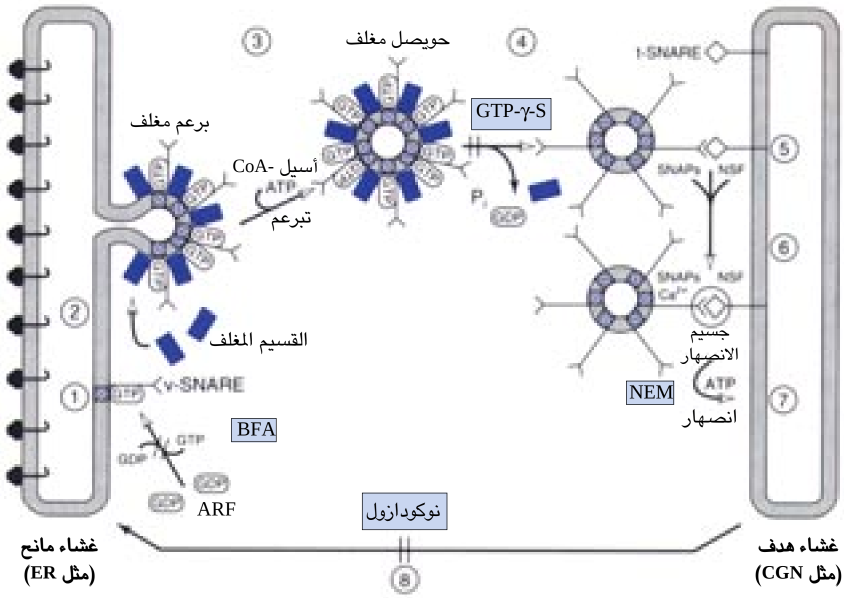
استقصاءات دور الـ GTP في العمليات الكيميائية الحيوية) بمحاصرة عدم انفصال الغلاف من الحويصلات المغلفة، مما يؤدي إلى بناء الحويصلات المغلفة.

(5) من الضروري وجود فصيلة من البروتينات الشبيهة بـ ras (الفصل 62) المسماة فصيلة البروتينات rab، في خطوات متعددة من نقل البروتينات داخل الخلية، وأيضاً الإفراز المنتظم والالتقام. وهي عبارة عن إنزيمات GTP آز صغيرة أحادية القسيمة ترتبط بسطوح العصارة الخلوية للأغشية عن طريق سلاسل جيرانيل الجيرانيل. وهي ترتبط بالحويصل المتبرعم وهي في الحالة المرتبطة بـ GTP (غير مبينة في الشكل 43-15). وترتبط فصيلة أخرى من البروتينات (Sec1) بالـ t-SNAREs وتمنع حدوث التآثرات معها ومع جزيئاتها v-SNARE المتممة. وعندما يتآثر حويصل ما مع غشائه الهدفي، فإن بروتينات الـ Rab تحل محل بروتينات Sec1 ويصبح ممكناً حدوث التآثر v-SNARE-t-SNARE دون إعاقة. ويبدو أن فصائل الـ Rab و Sec1 البروتينية تقوم بتنظيم سرعة تشكيل الحويصل، وبشكل يعاكس كل منها للآخر. وقد شبهت بروتينات الـ Rab بالصمامات وبروتينات Sec1 بالمخمدات في إجمالي عملية تشكيل الحويصل.

(6) أشارت الدراسات المجراة باستخدام البروتينات t-SNARE و -v التي أعيد تشكيلها ضمن حويصلات منفصلة مضاعفة الطبقة الشحمية إلى أن هذه البروتينات تشكل دبابيس (عقائف) الـ SNARE، أي معقدات الـ SNARE التي تربط الغشائين (الحويصلين). ولابد من توافر جزيئات SNARE و NSF لتشكيل دبابيس الـ SNARE، لكن حالما يتم تشكيلها فهي تستطيع وبشكل واضح أن تؤدي إلى اندماج الأغشية تلقائياً عند درجة الحرارة الفيزيولوجية، وهذا يدعو للافتراض بأنها هي الآلية الأصغرية اللازمة لاندماج الأغشية.

(7) تتضمن عملية اندماج الحويصلات المشبكية مع الغشاء البلازمي للعصبونات (الفصل 64) سلسلة حوادث مماثلة لتلك المشروحة أعلاه. فعلى سبيل المثال، تسمى إحدى بروتينات v-SNARE بالسينابتوبرڤين (Synaptobrevin). ويطلق على اثنين من بروتينات t-SNARE تسمية السينتاكسين (Syntaxin) والـ ”25“ SNAP (البروتين ذو الوزن 25 كيلو دالتون المرتبط بالجسيم المشبكي). من جانب آخر إن السم بوتيلينيوم

B (الذيفان الوشيقي) (Botulinum B) واحد من أكثر السموم المعروفة المهلكة للحياة، هو السبب الأكثر خطورة للتسمم الغذائي، حيث أن أحد مكونات هذا السم هو أحد إنزيمات البروتياز الذي يبدو أنه يشطر السينابتوبرڤين فقط، فيثبط بذلك تحرير الأسيتيل كولين عند الموصل العصبي العضلي، ومن الممكن أن يصبح مميتاً بحسب الجرعة المأخوذة.



الشكل 43-15 : نموذج الخطوات في دورة نقل حويصلي بالاتجاه الأمامي. تبدأ الدورة في الجانب الأيسر السفلي من الشكل، حيث جرى تمثيل جزيئات من ARF بشكل بيضاوي يحوي GDP. وقد تم وصف خطوات الدورة في النص. كما تم تفسير معظم الاختصارات المستخدمة في (الجدول 43-7). ولم يتطرق هذا الشكل لأدوار بروتينات Rab و Sec1 في مجمل العملية (انظر النص). (CGN: شبكة جولجي المقرونة؛ BFA: البرفلدين A).

(8) على الرغم من أن النموذج المذكور آنفاً يصف الحويصلات غير المغطاة بالكلاثرين، فإنه يبدو واضحاً أن العديد من الحوادث المذكورة أعلاه تنطبق، من حيث المبدأ على الأقل، على الحويصلات المغطاة بالكلاثرين.

لقد أظهرت المناقشة السابقة التي اهتمت بالنشوء الحيوي للأغشية بأن هذه العملية معقدة وما يزال الكثير من الأمور المحيطة بها غير معروف بعد. وإحدى المؤشرات على التعقيد الموجود هي التي تهتم بعدد التعديلات التي تجري بعد الترجمة، والتي قد تتعرض إليها البروتينات الغشائية قبل أن تبلغ حالتها الناضجة. ويتضمن ذلك تحلل البروتين وإدخال الجليكوزيل وإضافة مرساة الجليكوفسفاتيديل إينوزيتول (GPI)، والكبرتة (إضافة الكبريت أو السلفتة) عند ثمالة التيروزين أو السكريات والفسفتة والأستلة وإضافة البرنيل (Prenylation) وهي قائمة لاريب في أنها لم تكتمل بعد. إلا أن تقدماً واضحاً قد أنجز في هذا الشأن. ويوجز (الجدول 10-43) بعض الملامح الرئيسية لعملية تجميع الأغشية والتي نوقشت أعلاه.

* تنغرز الشحميات والبروتينات بشكل مستقل ضمن الأغشية * تتقلب البروتينات والشحميات الغشائية الواحدة بشكل مستقل وبسرعات مختلفة. * إن التسلسلات المولدة للموضع (مثل إشارة النهاية الأمينية أو الداخلية وإشارة إيقاف النقل) ذات أهمية في تحديد انغراز البروتينات وترتيبها في الأغشية. * تتبرعم البروتينات الغشائية الموجودة داخل حويصلات النقل من الشبكة الهيولية الباطنية في طريقها نحو جهاز جولجي، ويجري الفرز النهائي للعديد من البروتينات الغشائية في شبكة جولجي المفروقة. * توجه تسلسلات الفرز النوعية البروتينات نحو العضيات الخاصة بها مثل الجسيمات الحالة والجسيمات البيروكسية والمتقدرات.

الجدول 10-43: الملامح الرئيسية لعملية تجميع الأغشية.

تسمح الانتقائية الغشائية بإنجاز وظائف متخصصة:

إذا كان الغشاء البلازمي كتوماً (غير نفوذ) نسبياً فكيف تدخل معظم الجزيئات للخلية؟ وكيف تتحقق انتقائية هذه الحركة؟ إن الإجابات على مثل هذه الأسئلة مهمة في فهم كيف تقوم الخلايا بالتعامل مع التبدلات الثابتة التي تجري في الوسط خارج الخلايا. ويجب أن تمتلك الكائنات الحية العليا (التوالي) أيضاً وسائل للتواصل بين الخلايا المجاورة والبعيدة، بحيث يمكن تنسيق العمليات الحيوية المعقدة. ويجب أن تصل هذه الإشارات للأغشية وتنقل بوساطتها، أو يجب أن تتولد كنتيجة لبعض التآثرات مع الغشاء. ويبين (الجدول 43-11) بعض الآليات الرئيسية المستخدمة لإنجاز هذه الغايات المختلفة.

*** حركة الجزيئات الصغيرة عبر الغشاء:**
الانتشار (المنفعل والميسر)
النقل الفعال
*** حركة الجزيئات الكبيرة عبر الغشاء:**
الالتقام
الالتفاظ (الإيماس Exocytosis)
*** نقل الإشارة عبر الأغشية:**
مستقبلات سطح الخلية
1– التنبيغ الإشاري (Signal Transduction) (مثل جلوكون ← cAMP).
2 – تذويت الإشارة أي استبطانها وإدخالها (Signal internalization) (المقترن مع الالتقام، مثل مستقبل LDL)
الحركة نحو المستقبلات داخل الخلوية (الهرمونات الستيرويدية، وهو شكل من أشكال الانتشار) .
*** التماس والتواصل بين الخلايا.**

الجدول 43-11 : نقل المواد والمعلومات عبر الأغشية

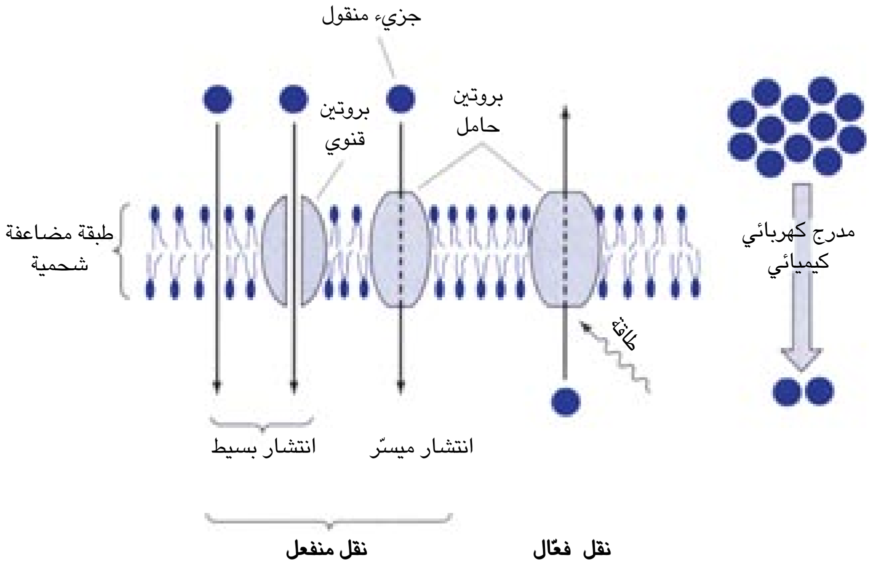
تحرك الآليات المنفعلة بعض الجزيئات الصغيرة عبر الأغشية:

تستطيع الجزيئات أن تعبر الطبقة المضاعفة بشكل منفعل باتجاه المدروجات الكهربائية الكيميائية عن طريق الانتشار البسيط أو الانتشار الميسر. وتتعاكس هذه الحركة التلقائية باتجاه التوازن مع النقل الفعال، الذي يتطلب الطاقة لأنه يشكل حركة معاكسة للمدروج الكهربائي الكيميائي. ويبين (الشكل 43-16) تمثيلاً تخطيطياً لهذه الآليات.

وكما شرحنا سابقاً، تستطيع بعض الذوائب مثل الغازات الدخول للخلية بالانتشار باتجاه المدروج الكهربائي الكيميائي عبر الغشاء ولا تحتاج للطاقة الأيضية. ويكون الانتشار المنفعل البسيط للذائبة عبر الغشاء محدداً بالتهييج الحراري لذلك الجزيء النوعي، وعن طريق المدروج التركيزي عبر الغشاء، وعن طريق ذؤوبية تلك الذائبة (معامل النفوذية، الشكل 43-6) في اللب الكاره للماء من الطبقة المضاعفة الغشائية. وتتناسب الذؤوبية عكسيا مع عدد الروابط الهيدروجينية التي يجب أن تتحطم لكي تصبح الذائبة الموجودة في الطور المائي الخارجي منجبلةً في الطبقة الكارهة للماء. ولا تشكل الكهارل (Electrolytes)، وهي ضعيفة الذوبان في الشحميات، روابط هيدروجينية مع الماء، لكنها تكتسب طبقة مائية واقية بفعل الإماهة الناجمة عن التآثر الكهربائي الساكن. ويتناسب حجم هذه الطبقة طرداً مع كثافة شحنة الكهرل؛ حيث إن الكهارل ذات الكثافة الكبيرة من الشحن تمتلك طبقة أكبر من الإماهة وبالتالي فهي ذات سرعة انتشار أبطأ. فالصوديوم، على سبيل المثال، ذو شحنة كثيفة أكبر من البوتاسيوم، لذلك يكون الصوديوم المميه أكبر من البوتاسيوم المميه؛ وبالتالي يميل البوتاسيوم للتحرك بسهولة أكبر عبر الأغشية.

توجد في الأغشية الطبيعية، خلافاً للطبقات المضاعفة الغشائية التركيبية، قنوات نقل عبر الأغشية، وهي بنى شبيهة بالمسام تتألف من بروتينات تشكل قنوات أيونية انتقائية. ويبلغ متوسط قطر قنوات نقل الكاتيونات (الهوابط، الأيونات الموجبة) نحو 5-8 نانومتر وتكون الشحنة سلبية ضمن القناة. وتتعلق نفوذية قناة ما بحجم الأيون وبدرجة الإماهة ودرجة كثافة الشحنة على الأيون. وقد تم تحديد قنوات نوعية لكل من Na^+ و K^+ و Ca^{2+} و Cl^-؛ ويعـــرض (الشكل 43-17) اثنتين من هذه القنوات.

حيث يظهر أن كليهما مؤلفتان من أربع وحيدات. وتتألف كل وحيدة من ست مناطق للحلزون ‎-α‎ عابرة للغشاء. وتتوضع النهايات الأمينية والكربوكسيلية للقناتين الإيونيتين في الهيولى، مع وجود عرى (Loops) خارج الخلية وداخلها. ولاتظهر في هذا الشكل المسام في القنوات التي تمر الأيونات من خلالها فعلاً. وهي تشكل مركزاً (يبلغ قطره نحو 5-8 نانومتر) لبنية متشكلة من توضع الوحيدات (قارن مع الشكل 64-2). وتكون القنوات انتقائية بدرجة عالية، وتسمح في معظم الحالات بمرور نمط واحد فقط من الأيونات (Na^+، .. Ca^{2+}، إلخ). وتوجد اختلافات عديدة في المخططات البنيوية السابقة، لكن كل القنوات الأيونية تتركب بشكل أساسي من الوحيدات العابرة للغشاء التي تلتحق سوياً لتشكل سماً (Pore) مركزياً تعبر من خلاله الأيونات بشكل انتقائي.



الشكل 43-16 : يمر العديد من الجزيئات الصغيرة غير المشحونة بسهولة خلال الطبقة المضاعفة الشحمية. أما الجزيئات المشحونة، والجزيئات غير المشحونة الأكبر حجماً، وبعض الجزيئات الصغيرة غير المشحونة فيجري نقلها خلال قنوات أو مسام أو بوساطة بروتينات حاملة نوعية. ويجري النقل المنفعل دائماً باتجاه المدروج الكهربائي الكيميائي، إلى جهة التوازن. أما النقل الفعال فيجري بعكس المدروج الكهربائي الكيميائي ويحتاج للتزويد بالطاقة، في حين لا يحتاج النقل المنفعل لذلك.

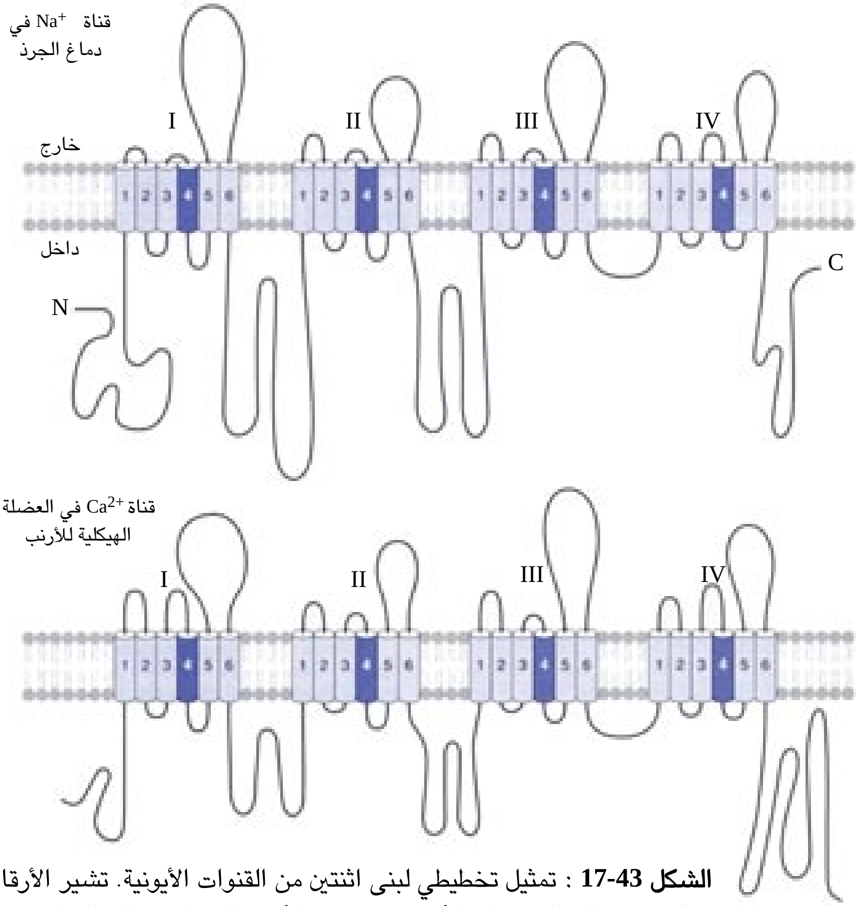
تحوي أغشية الخلايا العصبية قنوات أيونية درست بشكل جيد، وهي مسؤولة عن كمونات الفعل المتولدة عبر الغشاء. ويتم التحكم بنشاط بعض هذه القنوات بوساطة النواقل العصبية، لذلك يمكن تنظيم نشاط القناة. ويستطيع أيون واحد تنظيم نشاط قناة خاصة بأيون آخر. فعلى سبيل المثال: انخفاض تركيز Ca^{2+} في السائل خارج الخلوي يزيد نفوذية الغشاء ويزيد انتشار الصوديوم Na^{+}، وهذا يزيل استقطاب الغشاء ويحرض تفريغ الشحنة العصبية. وهذا قد يفسر التنمل (الخدّر: Numbness) والنخز (Tingling) والمعوص العضلية وهي أعراض لانخفاض مستوى الكالسيوم Ca^{2+} في المصل.

تفتح القنوات لفترة وجيزة مؤقتة لذلك فهي «مُبَّوبة» (ذات أبواب Gated). ويمكن التحكم بالأبواب عن طريق فتحها أو إغلاقها. ففي القنوات المبوبة باللجين، يرتبط جزيء نوعي بالمستقبل وتفتح القناة (الشكل 64-2). أما القنوات المبوبة بالقلطية (Voltage) فهي تفتح (أو تغلق) استجابة للتبدلات الحاصلة في الكمون الغشائي. ويبين (الجدول 43-12) بعض خصائص القنوات الأيونية؛ أما الملامح الأخرى للقنوات الأيونية فقد جرى مُناقشتها بإيجاز في (الفصلين 58 و 64).

تقوم أحياء مجهرية (مكروبات Microbes) معينة بتخليق جزيئات عضوية صغيرة تسمى الأيونوفورات (حوامل الأيونات: Ionophores) تعمل كمكوك يحرك الأيونات عبر الأغشية. وتحوي هذه الأيونوفورات مراكز محبة للماء تربط أيونات نوعية، وهي محاطة بمناطق محيطية كارهة للماء؛ حيث يسمح هذا الترتيب للجزيئات بأن تذوب بفعالية في الغشاء وتنتشر عرضاً فيه. في حين أن أنواعاً أخرى، مثل عديد الببتيد المدروس جيداً الجراميسيدين، تشكل قنوات. وتستطيع الذيفانات الجرثومية (ذيفانات الأحياء المجهرية)، كذيفان الدفتريا (الخناق: Diphtheria) ومكونات المتممة المصلية النشيطة، أن تشكل مساماً كبيرة في الأغشية الخلوية، فتَدخل الجزيئات الكبيرة بتلك الطريقة وتصل مباشرة إلى الوسط الداخلي للخلية.

ويمكن إيجاز ما سبق، بأن الانتشار الصافي لمادة ما يعتمد على النقاط التالية: (1) مدروج تركيزها عبر الغشاء، فالذوائب تتحرك من التركيز الأعلى للأخفض. (2) الكمون الكهربائي عبر الغشاء؛ حيث تحرك الذوائب نحو المحلول الذي يحمل شحنة

مضادة؛ ويكون داخل الخلية ذا شحنة سلبية عادة. (3) معامل نفوذية المادة بالنسبة للغشاء. (4) مدروج الضغط المائي الساكن (Hydrostatic) عبر الغشاء. فبارتفاع الضغط سوف يزداد معدل وقوة التصادم بين الجزيئات والغشاء. وأخيراً (5) الحرارة؛ فعندما ترتفع درجة الحرارة سوف تزداد حركة الدقائق وبالتالي يزداد تواتر التصادمات بين الدقائق الخارجية والغشاء.



الشكل 43-17 : تمثيل تخطيطي لبنى اثنتين من القنوات الأيونية. تشير الأرقام الرومانية إلى الوحيدات الأربع بكل قناة والأرقام الإنجليزية إلى القطاعات الحلزونية –α العابرة للغشاء في كل وحيدة. ولا يظهر في الشكل المسامات الفعلية التي تمر الأيونات من خلالها لكنها تتشكل بمصاقبة (بانضمام) الوحيدات المتنوعة (قارن بالشكل 46-2). كما لم تظهر أيضاً المناطق النوعية من الوحيدات والتي تسهم في فتح القنوات وإغلاقها.

تساهم الأغشية البلازمية في الانتشار الميسر والنقل الفعّال وعمليات أخرى:

يمكن وصف جمل النقل بالمعنى الوظيفي بحسب عدد الجزيئات المتحركة وجهة الحركة (الشكل 43-18)، أو حسب الحركة التي إما أن تكون باتجاه التوازن أو تبتعد عنه. فجملة النقل الأحادية (Uniport) تحرك نمطاً واحداً من الجزيئات باتجاهين. أما في جُمَل النقل المشارك (المشترك: Cotransport) فيعتمد نقل ذائبة واحدة إما على النقل المتواقت، الذي يأخذ في الحسبان التناسب الرياضي الكيميائي، أو على النقل المتسلسل وذلك لذائبة أخرى. في حين تقوم جمل المُرَاحِل (Symport) بتحريك هذه الذوائب (الذائبتين) بالاتجاه نفسه. ومن الأمثلة على ذلك نذكر: ناقل السكر ـ بروتون في الجراثيم ونواقل Na^+– سكر (جلوكوز، ومانوز، وجالاكتوز، وزيلوز، وآرابينوز) ونواقل Na^+– حمض أميني في خلايا الثدييات. وتحرك جمل التنادل (Antiport) جزيئين في اتجاهين متعاكسين (مثل إدخال أيونات الصوديوم وإخراج أيونات الكالسيوم).

* تتكون من وحيدات بروتينية عابرة للغشاء.
* معظمها ذو انتقائية عالية لأيون واحد، وقليل منها غير انتقائي.
* تسمح للأيونات غير القابلة للنفوذ بأن تعبر الأغشية بمعدلات تقترب من حدود الانتشار
* يمكنها أن تسمح بتدفق الأيونات بمعدل 10^6-10^7/ ثانية.
* تكون فعالياتها مُنَظمة.
* نمطاها الرئيسيان هما المبوبة بالقلطية والمبوبة باللجين.
* تكون محفوظة (مصانة) عادة بشكل كبير بين الأنواع.
* تمتلك أغلب الخلايا أصنافاً من قنوات لأيونات الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم والكلور.
* يمكن للطفرة في الجينات المرمزة لهذه القنوات أن تسبب أمراضاً نوعية[1].
* تتأثر فعالياتها ببعض الأدوية.

الجدول 43-12 : بعض خصائص القنوات الأيونية.

(1) نوقشت بإيجاز بعض الأمراض الناجمة عن طفرات في القنوات الأيونية في الفصل 58 .

الجدير ذكره هنا أن الجزيئات التي لا تستطيع أن تمر بنفسها بحرية خلال الغشاء ذي الطبقة الشحمية المضاعفة تفعل ذلك بارتباطها مع بروتينات حاملة. وهذا يتضمن عمليتين هما الانتشار المُيَسَّر والنقل الفعال بالإضافة إلى جمل نقل عالية النوعية.

يتشارك كل من الانتشار المُيَسَّر والنقل الفعّال بخصائص عديدة. حيث اتضح أن كليهما يتضمن بروتينات حاملة، ويبدي كلاهما نوعيةً تجاه الأيونات والسكاكر والأحماض الأمينية. وقد دعم وجود طفرات في الجراثيم وخلايا الثدييات (من ضمنها تلك المؤدية لأمراض في البشر) هذه النتائج. ويشابه كل من الانتشار الميسر والنقل الفعال التفاعل بين الإنزيم والركيزة باستثناء أنه لا تحدث أية تآثرات تكافؤية (تساهمية).

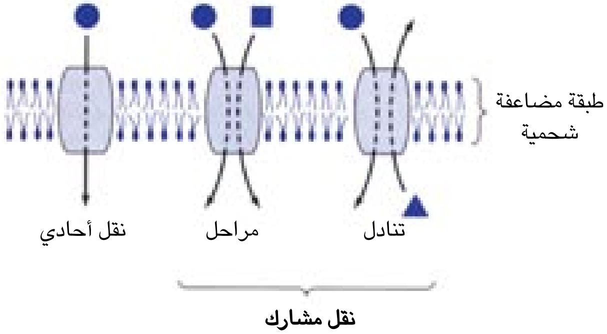
وفيما يلي نقاط هذا التشابه: (1) يوجد مقر ارتباط نوعي للذائبة. (2) يكون الحامل مشبعاً، لذلك تكون له سرعة أعظمية للنقل (V_{max}، الشكل 43-19). (4) توجد ثابتة لارتباط (K_m) الذائبة، ولهذا تكون لكامل الجملة الثابتة K_m (الشكل 43-19). (4) تقوم المثبطات التنافسية المماثلة بنيوياً بمحاصرة النقل.

أما الاختلافات الرئيسية فهي التالية: (1) يمكن للانتشار الميسَّر أن يعمل بإتجاهين، في حين أن النقل الفعال يكون أحادي الجهة عادة. (2) يجري النقل الفعال دائماً بعكس المدروج الكهربائي أو الكيميائي، لذلك فهو يتطلب الطاقة.

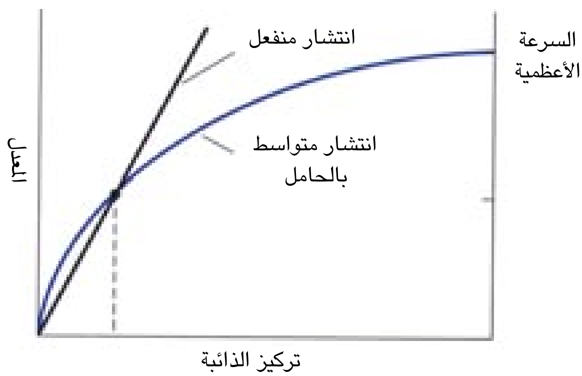
الانتشار الميسر:

تنتشر بعض الذوائب النوعية نحو المدروجات الكهربائية الكيميائية عبر الأغشية بسرعة أكبر مما هو متوقع بالنسبة لحجمها أو لشحنتها أو لمعاملات تقاسمها.

ويبدي هذا الانتشار المُيَسَّر خصائص تتميز عن تلك التي للانتشار البسيط. ويمكن إشباع سرعة الانتشار الميسر أي جملة النقل الأحادي (Uniport) ؛ أي، يبدو أن عدد المقرات المشتركة في انتشار الذوائب النوعية يكون محدوداً. ويكون العديد من جمل الانتشار الميسر ذا نوعية فراغية، لكنها على غرار الانتشار البسيط، لاتحتاج لطاقة أيضية.



الشكل 43-18 : مخطط يوضح أنماط الجمل الناقلة. يمكن تصنيف النواقل بحسب جهة الحركة وبناء على تحرك جزيء واحد مستقل أو أكثر.



الشكل 43-19 : مقارنة حرائك الانتشار المتواسط بالحامل (المُيَسَّر) مع الانتشار المنفعل. يكون معدل الحركة في الأخير متناسباً طرداً مع تركيز الذائبة، في حين تكون العملية قابلة للإشباع عندما تشترك الحوامل فيها. ويكون التركيز عند نصف السرعة الأعظمية مساوياً لثابتة ارتباط (K_m) الحامل بالذائبة.

وكما ذكرنا سابقاً، يكون اللاتناظر الداخلي ـ الخارجي للبروتينات الغشائية ثابتاً، وتكون حركة البروتينات عبر الغشاء (وليس فيه) نادرة الحدوث، لذلك من غير المحتمل أن يكون تحرك البروتينات الحاملة النوعية عرضاً مسؤولاً عن عمليات الانتشار المُيَسَّر، باستثناء تلك الخاصة بحوامل الأيونات (الأيونوفورات) في الأحياء المجهرية (المكروبات) (انظر ما سبق).

إن آلية كرة الطاولة (Ping-Pong) (الشكل 43-20) تفسر الانتشار الميسر. ففي هذا النموذج، يوجد البروتين الحامل في هيئتين فراغيتين أساسيتين، حيث أنه في حالة «بونج» Pong يكون معرضاً لتراكيز مرتفعة من الذائبة، وترتبط جزيئات الذائبة بمقرات نوعية على البروتين الحامل. ويجري النقل عندما يؤدي تبدل الهيئة الفراغية إلى تعريض الحامل للتركيز الأخفض من الذائبة (أي حالة «بينج» Ping) وهذه العملية عكسية تماماً وتعتمد محصلة التدفق عبر الغشاء على المدروج التركيزي. ويتحدد معدل دخول الذوائب للخلية بالانتشار الميسر بالعوامل التالية: (1) المدروج التركيزي عبر الغشاء. (2) كمية الحامل المتاحة (وهذه هي خطوة التحكم الأساسية). (3) سرعة التآثر بين الذائبة والحامل. (4) سرعة التبدل الفراغي لكل من الحامل المشحون (المُحَمَّل) وغير المشحون.

تقوم الهرمونات بتنظيم الانتشار الميسَّر عن طريق تغيير عدد النواقل المتاحة. فالإنسولين يزيد نقل الجلوكوز في العضلات والنسيج الشحمي باستنفار النواقل من المدخرات داخل الخلوية (الشكل 51-6). كما يعزز الإنسولين نقل الأحماض الأمينية في الكبد والأنسجة الأخرى. ومن التأثيرات التنسيقية للهرمونات القشرية السكرية تعزيز نقل الأحماض الأمينية للكبد، حيث تعمل الأحماض الأمينية هناك بعدئذ كركيزة لاستحداث السكر. ويزيد هرمون النمو نقل الأحماض الأمينية في جميع الخلايا، وتفعل الأستروجينات ذلك في الرحم. توجد خمس جمل حاملة مختلفة على الأقل للأحماض الأمينية في الخلايا الحيوانية، ويكون كل منها نوعياً لمجموعة من الأحماض الأمينية القريبة جداً من بعضها، وأغلبها يعمل كجمل نقل مراحلة مع الصوديوم (Na^+) (الشكل 43-18).

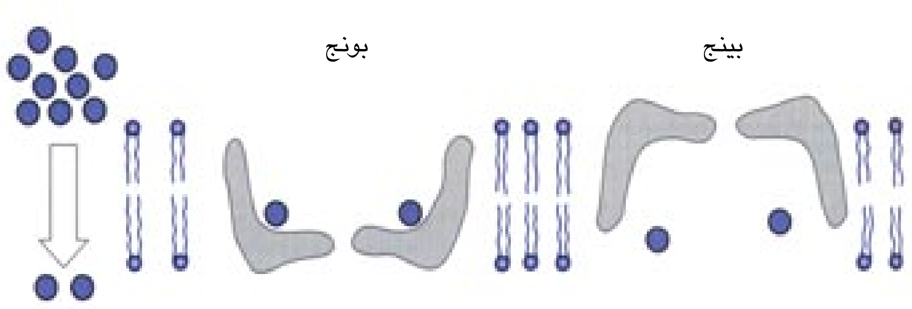
النقل الفعال:

تختلف عملية النقل الفعال عن الانتشار في أن الجزيئات تنقل بعيداً عن التوازن الثرموديناميكي، لذلك يحتاج النقل الفعال للطاقة؛ ويمكن توفير هذه الطاقة من حلمهة الـ ATP أو من حركة الإلكترونات أو من الضوء. لذلك فإن المحافظة على المدروجات الكهربائية الكيميائية في الجمل الحيوية أمر مهم، ذلك أنه يستهلك على الأرجح 30-40 ٪ من إجمالي إنفاق الطاقة في الخلية.

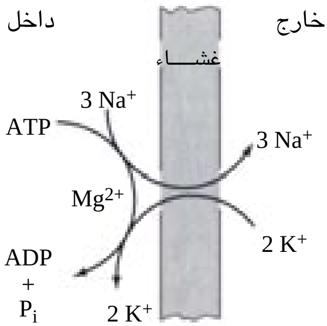
وتحافظ الخلايا عموماً على تركيز منخفض للصوديوم (Na^+) وتركيز مرتفع للبوتاسيوم (K^+) داخلها (الجدول 43-1)، إلى جانب كمون كهربائي داخلي سلبي تماماً. أما المضخة التي تحافظ على هذه المدروجات فهي الـ ATP آز الذي يتنشط بكل من Na^+ و K^+ (ATP آز المعتمد على Na^+ و K^+، انظر الشكل 43-21). حيث أن ATP آز بروتين غشائي متمم يحتاج للشحميات الفسفورية من أجل فعاليته. وهو يمتلك مراكز تحفيزية لكل من الـ ATP و Na^+ على الجانب الهيولي من الغشاء، أما مقر ارتباط K^+ فيتوضع على الجانب خارج الخلوي من الغشاء. ويثبط الوابابين (Ouabain) أو الديجيتال (Digitalis) هذا الـ ATP آز عن طريق الارتباط بالمنطقة خارج الخلوية. ويمكن معاكسة تثبيط الوابائين لـ ATP آز عن طريق البوتاسيوم K^+ خارج الخلوي.

تنقل الدفعات العصبية خارج الأغشية وداخلها:

يحافظ الغشاء المشكل لسطح الخلايا العصبونية على لاتناظرية الفلطية في الداخل والخارج (الكمون الكهربائي)، وهو قابل بسهولة للاستثارة بالكهرباء. وعندما يتنبه بشكل ملائم بإشارة كيميائية يتوسطها مستقبل غشائي مشبكي نوعي (انظر مناقشة نقل الإشارات الكيميائية الحيوية فيما بعد)، فإن البوابات الموجودة في الغشاء تفتح للسماح بحدوث تدفق سريع (دخول) لـ Na^+ أو لـ Ca^{2+} (مع أو دون تدفق K^+)، بحيث يزول الاختلاف بالفلطية بسرعة ويزال استقطاب تلك القطعة من الغشاء. إلا أنه، وبنتيجة تأثير المضخات الأيونية في الغشاء، يستعاد المدروج بسرعة.



الشكل 43-20 : طراز كرة الطاولة «بينج ـ بونج» للانتشار الميسر. يكون الحامل البروتيني (البنية الرمادية) في الطبقة المضاعفة الشحمية مترافقاً مع ذائبة بتركيز عال على أحد جانبي الغشاء. ويحدث تبدل في الهيئة الفراغية (من «بونج» إلى «بينج»)، وتتحرر الذائبة على الجانب الذي يميل للتوازن الجديد. ويعود الحامل الفارغ بعد ذلك إلى هيئته الفراغية الأصلية (من «بينج» إلى «بونج») لاستكمال الدورة.



الشكل 43-21 : الرياضيات الكيميائية لمضخة Na^+ - K^+ATPase. تحرك هذه المضخة ثلاث أيونات Na^+ من داخل الخلية إلى خارجها وتحمل أيونين منK^+ من الخارج لداخل الخلية مقابل حلمهة كل جزيء ATP إلى ADP بوساطة الأتباز ATPase المرتبط بالغشاء. ويثبط الواباين والجليكوزيدات القلبية الأخرى هذه المضخة بالـتأثير في السطح الغشائي خارج الخلوي.

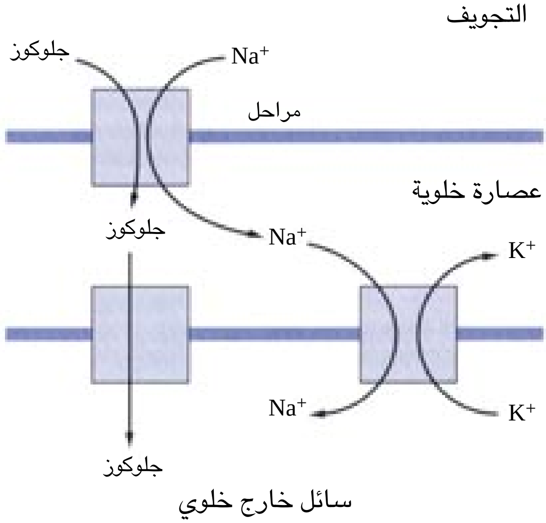
عندما يزال استقطاب مساحات واسعة من الغشاء وفق هذا الأسلوب، فإن الاضطراب الكهربائي الكيميائي ينتشر بشكل موجة على امتداد الغشاء مولداً دفعة عصبية. من جانب آخر، تحيط الأغماد الميلينية، المتشكلة من خلايا شوان، بالألياف العصبية فتوفر بذلك عازلاً كهربائياً يحيط بأغلب الأعصاب، وهو يسرع كثيراً انتشار (تقدم) الموجة (الإشارة) بالسماح للأيونات بأن تتدفق لداخل ولخارج الغشاء وفقط في المناطق الغشائية التي تخلو من العزل. ويتركب الغشاء الميليني من شحميات فسفورية (من ضمنها السفنجوميلين)، وكوليسترول وبروتينات وشحميات سفنجولية سكرية. كما يرتبط بالغشاء الميليني عدد قليل نسبياً من البروتينات الاندماجية والمحيطية، ويبدو أن تلك البروتينات الموجودة تتماسك مع بعضها والطبقات المضاعفة الغشائية المتعددة لتشكل الجزء الكاره للماء، وهي بنية عازلة لا تسمح بنفوذ الأيونات والماء. وتتميز بعض الأمراض مثل التصلب المتعدد ومتلازمة جيَّان ـ باريه (Guillain-Barré) بزوال الميلين وتضرر التوصيل العصبي.

يتضمن نقل الجلوكوز آليات متعددة:

تلخص مناقشة نقل الجلوكوز العديد من النقاط المطروحة في هذا الفصل. فالجلوكوز يجب أن يدخل إلى الخلايا كخطوة أولى من استعمال الطاقة. ويدخل الجلوكوز في الخلايا الشحمية والعضلات بوساطة جملة ناقلة نوعية تتعزز بالإنسولين. وتنجم التغيرات الطارئة على النقل بشكل رئيسي عن تبدلات V_{max} (غالباً بفعل الكثير أو القليل من النواقل النشيطة) لكن قد تسهم تبدلات K_m في ذلك أيضاً. ويتضمن نقل الجلوكوز مظاهر مختلفة لمبادئ النقل التي نوقشت سابقاً.حيث يرتبط كل من الجلوكوز والصوديوم Na^+ بمقرات مختلفة على ناقل الجلوكوز. ثم يتحرك Na^+ لداخل الخلية بإتجاه مدروجه الكهربائي الكيميائي و«يسحب» الجلوكوز معه (الشكل 43-22). لذلك كلما ازداد مدروج Na^+ كلما دخل جلوكوز أكثر، وإذا كان Na^+ منخفضاً في السائل خارج الخلوي، فإن نقل الجلوكوز يتوقف. وللمحافظة على مدروج متدرج لـ Na^+، فإن مراحل جلوكوز Na^+ ـ هذا يكون معتمداً على المدروجات المتولدة بفعل مضخة Na^+ - K^+ التي تحافظ على تركيز

منخفض لـ Na^+ داخل الخلية. وتستخدم آليات مماثلة لنقل السكاكر الأخرى وكذلك الأحماض الأمينية.

تتضمن حركة السكاكر عبر الخلية مركباً إضافياً، هي جملة النقل الأحادي التي تسمح للجلوكوز المتراكم في الخلية بأن يتحرك عبر سطح مختلف باتجاه توازن جديد؛ ويجري هذا على سبيل المثال في الخلايا المعدية والكلوية.



الشكل 43-22 : حركة الجلوكوز عبر الخلية المعوية. يتبع الجلوكوز الـ +Na عبر غشاء الظهارة التجويفية. ويتحقق مدروج Na^+ الذي يسير هذا المُراحل بوساطة التبادل Na^+ -K^+، الذي يجري عند الغشاء القاعدي المواجه لحيز السائل خارج الخلوي. ويتحرك الجلوكوز عند التراكيز العالية في الخلية نحو مستوى أدنى للسائل خارج الخلوي عن طريق الانتشار المُيَسَّر (آلية النقل الأحادي).

تنقل الخلايا جزيئات كبيرة معينة عبر الغشاء البلازمي:

يطلق على العملية التي تقوم الخلايا من خلالها بأخذ الجزيئات الكبيرة بالالتقام. ويمكن أن تكون بعض هذه الجزيئات (مثل عديدات السكريد والبروتينات وعديدات

النوكليوتيد) مصادر للعناصر التغذوية. ويوفر الالتقام آلية لتنظيم محتوى بعض المقومات الغشائية، كما هو الحال بالنسبة للمستقبلات الهرمونية.ويمكن أن يستخدم الالتقام لتعلم المزيد عن كيفية قيام الخلايا بوظيفتها. ويمكن استخدام الدنا (DNA) من نمط خلوي معين لإعداء خلية مختلفة وتبديل وظيفة هذه الخلية الأخيرة أو نمطها الظاهري. وغالباً ما يستخدم جين نوعي في هذه التجارب، وهذا يوفر طريقة فريدة لدراسة وتحليل تنظيم ذلك الجين. ويعتمد إعداء الدنا (DNA) على الالتقام؛ فالالتقام مسؤول عن دخول الدنا (DNA) إلى الخلية. وتستخدم مثل هذه التجارب فسفات الكلسيوم عادة، لأن أيونات Ca^{2+} تنبه الالتقام وترسب الدنا (DNA)، وهذا يجعل الدنا (DNA) هدفاً أفضل للالتقام. من جانب آخر، تقوم الخلايا بإطلاق الجزيئات الكبيرة بعملية الالتفاظ (الإيماس: Exocytosis).وتتضمن عمليتا الالتقام والالتفاظ تشكيل حويصل مع الغشاء البلازمي أو منه على الترتيب.

1 – **الالتقام**: تقوم جميع الخلايا حقيقيات النوى بهضم (بابتلاع) أجزاء من أغشيتها البلازمية. وتتولد حويصلات الالتقام عندما تنغمد قطع من الغشاء البلازمي، وهي تنغلق (تحيط) على حجم دقيق من السائل خارج الخلوي مع محتوياته، ثم ينضغط الحويصل عندما يتحدد عنق الحويصل بنتيجة اندماج الأغشية البلازمية عند موقع انغماده الأصلي (الشكل 43-23). وينصهر هذا الحويصل مع بنى غشائية أخرى وبذلك فهو يحقق نقل محتوياته إلى أحياز خلوية أخرى، أو حتى يعيدها إلى خارج الخلية. وتنصهر معظم حويصلات الالتقام مع جسيمات حالة أولية لتشكيل جسيمات حالة ثانوية، تحوي إنزيمات حلمهة، وهي لذلك تعد عضيات متخصصة باللفظ (الطرح) داخل الخلية. وتهضم المحتويات الجزيئية الكبيرة لتعطي أحماضاً أمينية وسكاكر بسيطة ونوكليوتيدات؛ وتنتشر هذه لخارج الحويصلات ليعاد استخدامها في الهيولى. وتستلزم عملية الالتقام مايلي (1) الطاقة، وتأتي عادة من حلمهة الـ ATP؛ (2) Ca^{2+} في السائل خارج الخلوي و (3) عناصر قلوصة في الخلية (على الأرجح جملة الخييطات) (الفصل 58).

يوجد نمطان عامان من الالتقام: البلعمة (Phagocytosis) التي تجري فقط في خلايا متخصصة كالبلاعم والمحببات (Granulocyte). سوف تتضمن البلعمة هضم (ابتلاع) جسيمات كبيرة كالفيروسات أو الجراثيم أو الخلايا أو الفضلات. وتكون

البلاعم في قمة نشاطها في هذه الحالة، قد تبتلع 25٪ من حجمها في الساعة. وفي حال حدوث ذلك، فإن بلعمة واحدة قد تذوت 3٪ من غشائها البلازمي بكل دقيقة أو كامل الغشاء كل 30 دقيقة.

يعد الاحتساء (Pinocytosis) خاصية موجودة في جميع الخلايا، ويؤدي إلى القبط الخلوي للسائل ولمحتويات السائل. ويوجد منه نمطان: أولهما الاحتساء بالطور السائل، وهي عملية غير انتقائية، يكون فيها قبط ذائبة ما بتشكيل حويصلات صغيرة متناسب بشكل بسيط مع تركيزها في السائل خارج الخلوي المحيط. ويكون تشكيل هذه الحويصلات عملية ناشطة للغاية. ونذكر هنا على سبيل المثال أن الأرومات الليفية تقوم بتذويت غشائها البلازمي بنحو ثلث سرعة (أو معدل) ما تقوم به البلاعم. وتجري هذه العملية بسرعة أكبر من عملية تركيب الأغشية. الجدير ذكره هنا أن مساحة سطح الخلية وحجمها لايتغيران بشكل كبير، لذلك يجب استبدال الأغشية بالالتفاظ أو بإعادة الدورة بسرعة تماشي سرعة إزالتها بالالتقام.

النمط الآخر من الاحتساء هو الاحتساء الامتصاصي (Absorptive pinocytosis)، وهو عملية انتقائية تتوسطها المستقبلات ومسؤولة بشكل رئيسي عن قبط الجزيئات الكبيرة التي يوجد لها عدد محدود من مواقع الارتباط على الغشاء البلازمي. وتسمح هذه المستقبلات عالية الألفة بتركيز اللجائن انتقائياً في الوسط، وهي تجعل قبط السائل أو الجزيئات الكبيرة الذوابة غير المرتبطة في الحدود الدنيا، وترفع بشكل واضح السرعة التي تدخل بها جزيئات نوعية إلى الخلية. وتشتق الحويصلات المتشكلة أثناء الاحتساء الامتصاصي من الانغماد (الوهدات) الذي يكون مغطى على الجانب الهيولي بمادة خيطية. حيث إنه في العديد من الجمل، يكون الكلاثرين هو المادة الخيطية، ويكون على الأرجح بروتيناً غشائياً محيطياً. وقد تشكل الوهدات المغطاة 2٪ من سطح بعض الخلايا.

يتم، على سبيل المثال، إدخال جزيء البروتين خفيض الكثافة (LDL) ومستقبله (الفصل 27) بوساطة الوهدات المغطاة الحاوية مستقبلة الـ LDL. وتحوي حويصلات الالتقام هذه الـ LDL مع مستقبله، وتندمج بالجسيمات الحالة في

الخلية، ثم يتحرر المستقبل وتعود دورته مجدداً إلى الغشاء السطحي للخلية، أما الصميم البروتيني للـ LDL فيتدرك ويجري أيض أسترات الكولستريل. ويتم تنظيم تخليق مستقبل الـ LDL بالنواتج الثانوية أو الثالثية للاحتساء، أي بوساطة النواتج الأيضية، كالكوليسترول المتحرر أثناء تدرك الـ LDL. وتعد اضطرابات مستقبلة الـ LDL وتذويته من الأمور المهمة طبياً، وقد نوقشت في (الفصل 27).

إن الجزيئات الكبيرة الأخرى، ومنها الهرمونات المتعددة، تكون هدفاً للاحتساء الامتصاصي، وتشكل جسيمات مستقبلة (Receptosomes)، وهي حويصلات تتجنب الجسيمات الحالّة وتعطي محتوياتها إلى مواقع أخرى داخل الخلية مثل جهاز جولجي.

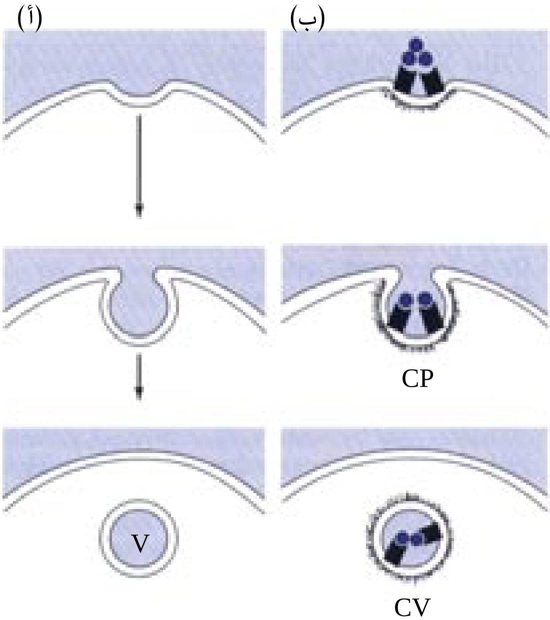
يتطلب الاحتساء الامتصاصي للبروتينات السكرية خارج الخلوية أن تحمل البروتينات السكرية أولاً إشارات تعريف نوعية ذات طبيعة سكرية. وتكون إشارات التعريف هذه مرتبطة بوساطة جزيئات مستقبلة غشائية، والتي تلعب دوراً مماثلاً لذلك الذي يقوم به مستقبل الـ LDL. ويعمل مستقبل الجالاكتوزيل على سطح الخلايا الكبدية كأداة في الاحتساء الامتصاصي للبروتينات السكرية غير السيالية من الدوران (الفصل 56). ويتم التعرف على إنزيمات الهيدرولاز (الحلمهة) الحامضية المأخوذة بالاحتساء الامتصاصي في الأرومات الليفية عن طريق ما تحويه من جزيئات المانوز 6– فسفات. والمثير في الأمر، أن جزء المانوز 6 – فسفات يقوم على الأرجح بدور مهم في تهديف (توجيه) إنزيمات الهيدرولاز الحامضية داخل الخلية نحو الجسيمات الحالّة بالخلايا التي يتم تخليقها فيها (الفصل 56).

يوجد جانب لا يبعث على الاطمئنان فيما يتعلق بالاحتساء المتواسط بالمستقبل، حيث أن الڤيروسات التي تسبب أمراضاً كالتهاب الكبد (المؤثر في الخلايا الكبدية)، والتهاب سنجابية الدماغ (المؤثر في العصبونات المحركة) والإيدز AIDS (المؤثر في الخلايا T)، تبدأ تأثيرها الضار بوساطة هذه الآلية، كما تنجم سمية الحديد، عند فرط مدخوله، بآلية الالتقام.

2 – الالتفاظ أو الإيماس (Exocytosis) (طرح الخلية لمحتوياتها إلى الخارج): تحرر معظم الخلايا الجزيئات الكبيرة أيضاً إلى الخارج عن طريق الالتفاظ (الإيماس).

وتساهم هذه العملية كذلك في إعادة تشكيل الأغشية عندما تكون المكونات التي تم تخليقها في جهاز جولجي، محمولةً في حويصلات إلى الغشاء البلازمي. وغالباً ما تكون إشارة الالتفاظ (الإيماس) هرموناً، والذي، عند ارتباطه بمستقبل على السطح الخلوي، يحرض حدوث تبدل موضعي وعابر في تركيز Ca^{2+}. حيث تحرض أيونات Ca^{2+} حدوث الالتفاظ (الإيماس). ويبين (الشكل 43-24) مقارنة لآليات الالتفاظ (الإيماس) والالتقام.

تقع الجزيئات المتحررة بفعل الالتفاظ (الإيماس) في ثلاث فئات (1) يمكنها أن ترتبط بالسطح الخلوي وتصبح بروتينات محيطية، مثل المستضدات. (2) يمكن أن تصبح جزءاً من المطرس (المطرق) خارج الخلوي، كالكولاجين وجليكانات الجلوكوز أمينية. (3) يمكنها الدخول للسائل خارج الخلوي وأن تؤشر خلايا أخى. فالإنسولين وهرمونات الدريقات. والكاتيكولامينات جميعها تكون معلبة في حبيبات، وتعبر عن نفسها ضمن الخلايا حتى تتحرر بتأثير تنبيه مناسب (انظر الفصول 47 و49 و51).



الشكل 43-23 : نمطان من الالتقام. يتشكل حويصل الالتقام (V) بنتيجة انغماد جزء من الغشاء البلازمي. يكون التقام الطور السائل (أ) عشوائياً وغير موجه. أما الالتقام المتواسط بالمستقبل (ب) فيكون انتقائياً ويجري في وهدات مغلفة (CP) مبطنة ببروتين الكلاثرين (المادة الزغبية). ويتحقق التهديف بوساطة مستقبلات (رموز سوداء في الشكل) نوعية للجزيئات المتنوعة، وهذا يؤدي إلى تشكيل حويصل مُغَلَّف (CV).



الشكل 43-24 : مقارنة آليتي الالتقام والإيماس (الالتفاظ). يتضمن الإيماس تماس طبقتين أحاديتين من السطح الداخلي (الجانب الهيولي)، في حين ينجم الالتقام عن طريق تماس طبقتين أحاديتين من السطح الخارجي.

تنقل بعض الإشارات عبر الأغشية:

ترتبط إشارات كيميائية حيوية نوعية كالنواقل العصبية والهرمونات والجلوبولينات المناعية بمستقبلات نوعية (بروتينات متممة أو اندماجية) معرضة للجانب الخارجي من الأغشية الخلوية وهي تنقل المعلومات خلال هذه الأغشية إلى الهيولى. وتتضمن هذه الآلية توليد عدد من الإشارات، منهاالنوكليوتيدات الحلقية والكالسيوم والفسفوإينوزيتيدات وثنائي أسيل الجليسرول. وقد نوقشت بالتفصيل في (الفصل 44).

يمكن تواصل المعلومات بالتماس بين الخلايا:

توجد مناطق تماس عديدة بين الخلايا في الكائنات الحية التوالي (الراقية). ويتطلب ذلك حدوث تماس بين الأغشية البلازمية للخلايا المستقلة. وقد طورت الخلايا مناطق متخصصة على أغشيتها للتواصل داخل الخلوي بشكل وثيق. وتتوسط المواصل الفجوية وتنظم كذلك مرور الأيونات والجزيئات الصغيرة خلال لب ضيق محب (أليف) للماء يصل بين الهيولى التابعة للخلايا المجاورة. ويعتقد أن الأيونات والجزيئات الصغيرة يمكن أن تمر خلال هذه الفتحة المركزية من خلية إلى أخرى بأسلوب منظم.

تسبب الطفرات المؤثرة في البروتينات الغشائية حدوث أمراض:

على ضوء الحقيقة القائلة: إن الأغشية تكون متوضعة في العديد من العضيات، وتشترك في عمليات متعددة، فإنه ليس من الغرابة أن تؤدي الطفرات التي تؤثر في تركيبتها البروتينية إلى العديد من الأمراض أو الاضطرابات. ويمكن تصنيف البروتينات الغشائية كمستقبلات ونواقل وقنوات أيونية وإنزيمات ومكونات بنيوية. وغالباً ما تكون عناصر جميع هذه الصفوف من البروتينات المرتبطة بالجليكوزيل، بحيث أن الطفرات المؤثرة بهذه العملية قد تبدل وظيفتها. ويبين (الجدول 43-13) أمثلة عن الأمراض أو الاضطرابات الناجمة عن شذوذات في البروتينات الغشائية؛ وتعكس هذه الحالات بشكل رئيسي الطفرات في بروتينات الغشاء البلازمي، مع حالة واحدة تؤثر في وظيفة الجسيمات الحالّة (داء الخلية I-).

وقد عُزي نحو 30 مرضاً أو اضطراباً وراثياً للطفرات التي تؤثر في العديد من البروتينات المساهمة في نقل الأحماض الأمينية والسكاكر والشحميات والبولات (اليورات) والأنيونات (الصواعد: أيونات سالبة) والكاتيونات (Cations) (الهوابط: أيونات موجبة) والماء والڤيتامينات وذلك عبر الغشاء البلازمي. كذلك يمكن أن يكون للطفرات في الجينات المرمزة لبروتينات أغشية أخرى عواقب وخيمة. فعلى سبيل المثال يمكن للطفرات في الجينات المرمزة لبروتينات الأغشية المتقدرية المشتركة في الفسفتة التأكسدية أن تسبب مشكلات عصبية وغيرها (الفصل 64). وقد تتأثر البروتينات الغشائية كذلك بعوامل أخرى غير الطفرات. فتشكيل أضداد ذاتية (Autoantibodies) لمستقبل الأسيتيل كولين في العضلة الهيكلية يسبب وهناً عضلياً وبيلاً (الفصل 64). ويمكن للإقفار (نقص التروية Ischemia) أن يؤثر بشكل سريع في تكامل وسلامة القنوات الأيونية المختلفة في الأغشية. كما أن الشذوذات في المكونات الغشائية غير البروتينية يمكن أن تكون ضارة أيضاً. أما فيما يتعلق بالشحميات، فإن فرط الكوليسترول (كما في فرط كوليسترول الدم العائلي)، أو فرط الشحميات ليزو الفسفورية (كما يحدث بعد عضات أفاعي معينة تحوي سمومها إنزيمات الفسفوليباز)، أو فرط الشحميات السفنجولية السكرية (كما في داء الشحام السفنجولي) يمكن لجميعها أن تؤثر في وظيفة الأغشية.

المرض	الشذوذ
نقص التعظم الغضروفي (الودانة) Achondroplasia (MIM 100800)	طفرات في الجين المرمز لمستقبلة 3 عامل نمو الأرومة الليفية
فرط كوليسترول الدم العائلي (MIM 143890)	طفرات 22 في الجين المرمز لمستقبلة LDL
التليف الكيسي (MIM 219700)	طفرات في الجين المرمز لبروتين CFTR ، وهو ناقل -Cl
متلازمة موجة QT الطويلة الولادية (MIM 192500)	طفرات في الجين المرمز للقنوات الأيونية في القلب
داء ولسون (277900)	طفرات في الجين المرمز لـ ATP ـ آز المعتمد على النحاس
داء الخلية -I (MIM 252500)	طفرات في الجين المرمز لناقلة فسفو GLc NAc، المؤدية لغياب إشارة Man 6-P الخاصة بالتوضع اليحلولي لبعض إنزيمات الهيدرولاز (الحلمهة).
كثرة الحمر الكروية الوراثي في الدم (تكوّر الحمراء الوراثي) (MIM 182900)	طفرات في الجينات المرمزة للسبكترين أو لبروتينات بنيوية أخرى في غشاء الكرية الحمراء.
النقائل	يعتقد أن للشذوذات في السلاسل قليلة السكريد للبروتينات السكرية وللشحميات السكرية الغشائية أهمية في هذه الحالة.
البيلة الهيموجلوبينية الليلية الانتيابية (الاشتدادية) (MIM 311770)	طفرة تؤدي إلى عدم ارتباط مرساة الـ GPI ببروتينات معينة في غشاء الكرية الحمراء.

الجدول 13-43 : بعض الاضطرابات أو الحالات المرضية الناجمة عن/ أو المنسوبة للشذوذات في الأغشية*.

** نوقشت الاضطرابات المدرجة في الجدول بشكل مفصل في فصول أخرى. ويبيّن الجدول أمثلة عن طفرات تؤثر في مستقبلات ونواقل وقنوات أيونية وإنزيمات وبروتينات بنيوية. وتوجد أيضاً أمثلة عن تبدل أو عيب في عملية ضم الجليكوزيل للبروتينات السكرية. وتؤثر معظم الحالات الموجودة في الأغشية البلازمية.*

الخلاصة:

الأغشية بنى معقدة مؤلفة من الشحميات والسكريات والبروتينات. والبنية الأساسية لكل الأغشية هي الطبقة الشحمية المضاعفة. وتتشكل هذه الطبقة المضاعفة من وريقتين من الشحميات الفسفورية تكون فيهما الزمر الرأسية القطبية المحبة للماء متوجهة للخارج بعيداً عن بعضها البعض (بعكس بعضها) ومتعرضة للوسط المائي على السطحين الداخلي والخارجي من الغشاء. وتتوجه الذيول غير القطبية الكارهة للماء التابعة لهذه الجزيئات نحو بعضها البعض، باتجاه مركز الغشاء. وتصنف البروتينات الغشائية كمتممة (اندماجية) إذا كانت منطمرة بقوة في الطبقة المضاعفة، وكمحيطية إذا كانت مرتبطة بضعف بالسطح الداخلي أو الخارجي. تتمتع الأغشية المختلفة العشرو،ن أو ما يقارب ذلك، الموجودة في خلايا الثدييات بوظائف داخلية (كالفعالية الإنزيمية)، وهي تطال أحياناً أو أوساط متخصصة في الخلية التي تقوم بوظائف نوعية (كالجسيمات الحالة). نوقشت عملية تركيب الأغشية، وهي معقدة للغاية يجري الحفاظ على لاتناظر كل من الشحميات والبروتينات في أثناء تركيب الأغشية. توجه بروتينات عديدة نحو مواقعها عن طريق تسلسلات إشارية، ويوضع قرار الفرز الرئيسي عندما يتم تقاسم البروتينات بين عديدات الريباسات المرتبطة بالأغشية والموجودة في العصارة الخلوية بموجب وجود أو غياب الببتيد الإشاري. يتم تخليق العديد من البروتينات على عديدات الريباسات المرتبطة بالأغشية، وتصل إلى جهاز جولجي والغشاء البلازمي في حويصلات نقل. يجري عدد من تفاعلات ضم الجليكوزيل في أحياز جهاز جولجي، ويخزن المزيد من البروتينات في شبكة جولجي المفروقة. ويبدو أن معظم البروتينات الخاصة بالغشاء البلازمي وبالإفراز تفتقر للإشارات النوعية، ولها آلية افتراضية. نوقش دور البروتينات المرافقة (الشابيرونات) في تطوي البروتينات، وأوجزنا وصفاً لنموذج تبرعم وارتباط حويصلات النقل بالغشاء الهدف.

تنتشر جزيئات معينة بحرية خلال الأغشية، لكن تكون حركة الآخرين محدودة حسب الحجم أو الشحنة أو الذؤوبية. تستخدم آليات فعالة ومنفعلة عديدة للمحافظة على مدروجات مثل هذه الجزيئات عبر الأغشية المختلفة. وتدخل ذوائب معينة، كالجلوكوز، إلى الخلية عن طريق الانتشار المُيَسر، حسب اتجاه المدروج من التركيز

الأعلى إلى الأخفض. وتساهم جزيئات حاملة نوعية أو نواقل في مثل هذه العمليات. وغالباً ما تُستخدم القنوات الأيونية المبوبة بالڤلطية أو باللجين لتحريك الجزيئات المشحونة (Na^+، K^+، Ca^{2+} وغيرها) خلال الأغشية. ويمكن للجزيئات الكبيرة أن تدخل الخلية أو تتركها من خلال آليات كالالتقام أو الالتفاظ (الإيماس). وغالباً ما تحتاج هذه العمليات لارتباط الجزيء بمستقبل، وهذا يعطي النوعية للعملية. وفي الختام، قد تكون المستقبلات مكونات متممة (اندماجية) في الأغشية (بخاصة الغشاء البلازمي). وقد لا يسهم تآثر اللجين مع مستقبله في تحريك أي منهما لداخل الخلية، لكن يؤدي التآثر إلى توليد إشارة تؤثر في العمليات داخل الخلية. قد تسبب الطفرات التي تؤثر في بنية البروتينات الغشائية (مستقبلات ونواقل وقنوات أيونية وإنزيمات وبروتينات بنيوية) حدوث أمراض، ونذكر من الأمثلة: التليف الكيسي وفرط كوليسترول الدم العائلي.

*** References:**

Ackerman MJ, Clapham DE: Mechanisms of disease: Ion Channels basic science and clinical disease. *N Engl J Med* 1997;336;1575.

Bukau B, Horwich AL: The Hsp70 and Hsp60 chaperone ~ machines. *Cell* 1998;92:351.

Elsas LS et al: *Inherited defects of membrane transport*. In: *Harrison's* Principles of Internal Medicine, 14th ed. Fauci AS et al (editors). McGraw-Hill, 1998.

Fuller GM, Shields DL: *Molecular Basis of Medical Cell Biology.* Appleton & Lange, 1998.

Graham JM, Higgins JA: *Membrane Analysis.* BIOS Scientific, 1997.

Griffith J, Sansom C: *The Transporter Facts Book.* Academic Press, 1998.

McNew JA, Goodman JM: The targeting and assembly of peroxisomal proteins: Some old rules do not apply. : *Trends Biochem Sci* 1996;21:54.

Neuport W: Protein import into mitochondria. *Annu Rev Biochem* 1997;66:863.

Reithmeier RAF: Assembly of proteins into membranes. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes.* Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 1996.

Rothman JE, Wieland FT: Protein sorting by transport vesicles. *Science* 1996;272;227.

Sabatini DD, Adesnik MB: The biogenesis of membranes and organelles. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 7th ed. Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 1995.

Weber T et al: SNAREpins: Minimal machinery for membrane fusion. *Cell* 1998;92:759.

Weis K: Importins and exportins: How to get in and out of the nucleus. *Trends Biochem Sci* 1998;23:185.

الفصل الرابع والأربعون

الفعل الهرموني (آلية عمل الهرمون)

Hormone Action

مقدمة:

يبدأ الفعل الهرموني على المستوى الخلوي بارتباط الهرمون مع مستقبلته النوعية. ويمكن تصنيف الهرمونات حسب موضع المستقبلة وطبيعة الإشارة أو المرسال الثانوي (الثاني) المستخدم في توسط العمل الهرموني ضمن الخلية. وقد أمكن تحديد عدد من هذه المراسيل الثانوية، وقد حدث تطور مهم في توضيح كيفية عمل الهرمونات داخل الخلايا، بخاصة فيما يتعلَّق بتنظيم تعبير الجينات النوعية.

الأهمية الطبية البيولوجية:

يعتمد تشخيص الأمراض ومعالجتها بشكل عقلاني على فهم الفيزيولوجية المرضية المساهمة فيها، والقدرة على تقديرها. وتعد أمراض جهاز الغدد الصم، التي تنجم عموماً عن الإنتاج المفرط أو الناقص للهرمونات، مثالاً جيداً على تطبيق المبادئ الأساسية بالطب السريري. وقد مكنت معرفة المظاهر العامة للفعل الهرموني وفهم التأثيرات الفيزيولوجية والكيميائية الحيوية للهرمونات، كل على حدة، من تمييز متلازمات أمراض الغدد الصم الناجمة عن عدم التوازن الهرموني، ومن تطبيق المعالجة الفعالة.

تحظى المستقبلات الهرمونية بأهمية أساسية:

تميّز المستقبلات بشكل دقيق:

توجد الهرمونات بتراكيز منخفضة جداً في السائل خارج الخلوي، بمجال يتراوح عموماً من 10^{-15} إلى 100^{-9} جزيء/ل. وهذا التركيز أخفض بكثير من تركيز العديد من الجزيئات المشابهة بنيوياً (الستيرولات والأحماض الأمينية والببتيدات والبروتينات) والجزيئات الأخرى التي تجول في الدوران بتراكيز ضمن المجال 10^{-5} إلى 10^{-3} جزيء/ل. لذلك يجب على الخلايا الهدف أن تميز ـ ليس فقط بين الهرمونات المختلفة الموجودة بكميات صغيرة ـ لكن أيضاً بين هرمون معين وزيادة بمقدار 10^{6} - 10^{9} ضعفاً من الجزيئات الأخرى. وتتحقق هذه الدرجة العالية من التمييز عن طريق جزيئات تعريف مرتبطة بالخلية تسمى المستقبلات. وتباشر الهرمونات تأثيراتها البيولوجية عند الارتباط بمستقبلات نوعية، ونظراً لأن أية جملة مراقبة أو تحكم فعالة يجب أن توفر أيضاً وسيلة لإيقاف الاستجابة، فإن الأفعال التحريضية للهرمونات تنتهي عموماً عندما يفترق المستفعل (Effector)عن المستقبلة.

تتحدد الخلية الهدف بقدرتها على ربط هرمون معين بشكل انتقائي بوساطة مثل هذه المستقبلة، ويمكن تحديد مقدار هذا التآثر باستخدام روابط نشيطة إشعاعياً تقلد (تحاكي) الارتباط الهرموني. وهناك عدة ملامح مهمة لهذا التآثر: (1) يجب ألا تُغيَّر الفعالية الإشعاعية من النشاط البيولوجي للّجين؛ (2) يجب أن يكون الارتباط نوعياً، أي لا يمكن إزاحته إلاَّ بناهضة (شادّة: Agonist) أو مناهضة (ضادة) (Antagonist) غير موسومين؛ (3) يجب أن يكون الارتباط قابلاً للإشباع؛ و (4) يجب أن يحدث الارتباط ضمن مجال تركيز الاستجابة البيولوجية المتوقعة.

توجد مناطق التعرف والتقارن على المستقبلات:

تتصف جميع المستقبلات، سواء كانت مستقبلات عديدات الببتيد أو الستيرويدات، بمنطقتين وظيفيتين على الأقل. فمنطقة التعرف تربط الهرمون، وتولِّد منطقة ثانية الإشارة التي تَقرُن تعريف الهرمون مع بعض الوظائف داخل الخلية.

ويحدث التقارن بطريقتين عامتين، فالهرمونات البروتينية وعديدة الببتيد والكاتيكولامينات ترتبط بمستقبلات متوضّعة في الغشاء البلازمي، وبهذا تولِّد إشارة تنظِّم مختلف الوظائف داخل الخلوية، غالباً عن طريق تغيير فعالية إنزيمات معينة. أما الهرمونات الستيرويدية والدرقية فتتآثر مع مستقبلات داخل الخلية، ثم يعطي هذا المعقد الإشارة (انظر لاحقاً).

لقد أمكن تحديد تسلسلات الأحماض الامينية لهاتين المنطقتين في العديد من مستقبلات الهرمونات عديدة الببتيد. واتضح أن مستقبلات الهرمونات الستيرويدية تمتلك عدة مقرات وظيفية: المقر الأول يربط الهرمون، والثاني يرتبط بمناطق نوعية في الدنا (DNA)، ويفعل الثالث (أو يكظم) انتساخ الجين، وقد يعطي الرابع النوعية الدقيقة للارتباط ببروتينات أخرى. إن الوظائف المزدوجة للارتباط والتقارن هي التي تحدد في نهاية الأمر المستقبل، وهي اقتران الارتباط الهرموني مع تنبيغ الإشارة، ويسمى هذا تقارن المستقبل والمستفعل (Receptor-effector coupling)، ويوفر ذلك الخطوة الأولى في تضخيم الاستجابة الهرمونية. كما يميز هذا الهدف المزدوج مستقبل الخلية الهدف عن البروتينات الحاملة البلازمية التي تربط الهرمون لكنها لا تولِّد إشارة.

المستقبلات هي بروتينات:

لقد كان مستقبل الأسيتيل كولين، الذي كان من السهل تنقيته لأنه يوجد بكميات كبيرة نسبياً في العضو الكهربائي لسمكة الحنكليس *(Torpedo californica)*، أحد أول المستقبلات التي درست بالتفصيل. ويتألف مستقبل الأسيتيل كولين من أربع وحيدات في الهيئة α_2، β، γ ، δ. حيث تربط الوحيدتان α الأسيتيل كولين؛ وقد استخدمت تقانة توليد الطفرة الموجه للموضع لإظهار أي من مناطق هذه الوحيدة هي التي تشارك في تشكيل القناة الأيونية عبر الغشاء، والتي تحقق الوظيفةَ الرئيسية لمستقبل الأسيتيل كولين.

توجد مستقبلات أخرى بكميات صغيرة جداً؛ لذلك كانت التنقية والوصف بالطرق التقليدية من الأمور الصعبة. وتوفر تقانات تكنولوجيا الدنا (DNA) المأشوب

الكميات المطلوبة من المادة لمثل هذه الدراسات، فأصبحت بذلك ميداناً ناشطاً للاستقصاءات. إن مستقبلة الإنسولين رباعي قسيمة متغاير ($\alpha_2\ \beta_2$) مرتبط بعدة روابط ثنائية الكبريت، حيث تكون الوحيدة α فيه خارج الغشاء وهي التي تربط الإنسولين، وتقوم الوحيدة α العابرة للغشاء بتنبيغ الإشارة، وذلك خلال كيناز الثيروزين، وهو مكون في الجزء الهيولي لعديد الببتيد هذا. وتكون مستقبلات كل من عامل النمو I الشبيه بالإنسولين (IGF-I)، وعامل النمو البشروي (EGF)، والبروتين الشحمي منخفض الكثافة (LDL) شبيهة عموماً لمستقبل الإنسولين (الشكل 51-9). وتتميز مستقبلات الهرمونات عديدة الببتيد التي تنبغ الإشارات بتغيير معدل إنتاج cAMP بوجود سبع مناطق تعبر الغشاء البلازمي.

تبين من مقارنة العديد من المستقبلات الستيرويدية المختلفة مع مستقبلات الهرمونات الدرقية أنها تحتفظ بشكل واضح بتسلسل من الأحماض الأمينية في المناطق، بخاصة في مناطق الارتباط بالدنا (DNA). وهذا يدعو إلى القول بأن المستقبلات من النمط الستيرويدي أو الدرقي هي عناصر في فصيلة كبيرة. ولا يكون للعديد من العناصر القريبة في هذه الفصيلة لجيناً معروفاً، لذلك فهي تسمى بالمستقبلات اليتيمة (Orphan receptors).

تمتلك مستقبلات هذا الصف العديد من المناطق الوظيفية. وتعد مستقبلة القشرانيات السكرية مثالاً جيداً عنها (الشكل 48-6). فلهذا الجزيء عدة مناطق وظيفية: (1) منطقة ارتباط الهرمون في الجزء النهائي (الطرفي) الكربوكسيلي (2) منطقة مجاورة لارتباط الـ DNA (3) منطقتان على الأقل تنشطان انتساخ الجين (4) منطقتان على الأقل مسؤولتان عن إزفاء المستقبل من الهيولى إلى النواة (5) وأخيراً منطقة تربط بروتين الصدمة الحرارية في حال غياب اللجين.

يمكن تصنيف الهرمونات بعدة طرق:

يمكن تصنيف الهرمونات حسب التركيب الكيميائي وخصائص الذوبان وتوضع المستقبلات وطبيعة الإشارة المستخدمة في تواسط العمل الهرموني داخل الخلية. ويوضح (الجدول 44-1) تصنيفاً معتمداً على الخاصيتين الأخيرتين، في حين يوضح

(الجدول 44-2) الملامح العامة لكل مجموعة. تكون الهرمونات في المجموعة الأولى أليفة (محبة) للشحوم، وهي باستثناء T_3 و T_4، مشتقة من الكوليسترول. وترتبط هذه الهرمونات بعد الإفراز ببروتينات ناقلة، وهي العملية التي تحل مشكلة الذوبان وتطيل العمر النصفي في البلازما. ويعبر الهرمون الحر بسهولة الغشاء البلازمي لكافة الخلايا، ويلتقي المستقبلات إما في العصارة الخلوية أو في النواة في الخلايا الهدف. ويفترض أن معقد لجين ـ مستقبل هو المرسال داخل الخلوي في هذه المجموعة.

الجدول 44-1 : تصنيف الهرمونات حسب آلية العمل.

I– الهرمونات التي ترتبط بمستقبلات داخل الخلية

الأندروجينات

الكالسيتريول – ($1,25\ [OH]_2\text{-}D_3$)

الإستروجينات

القشرانيات السكرية

القشرانيات المعدنية

البروجستينات

حمض الريتينويك

هرمونات الغدة الدرقية (T_3 و T_4)

II – الهرمونات التي ترتبط بمستقبلات على السطح الخلوي

A– المرسال الثانوي هو cAMP:

الكاتيكولامينات الأدرينالية الفعل α_2

الكاتيكولامينات الأدرينالية الفعل β

هرمون موجهة قشر الكظر (ACTH)

الأنجيوتنسين II

الهرمون المضاد لإدرار البول (ADH)

الكالسيتونين

موجهة الغدد التناسلية لإدرار البول (hCG)

الهرمون المطلق لموجهة قشر الكظر (CRH)

الهرمون المنبه للجريب (FSH)

الجلوكاجون

الليبوتروبين (LPH)

الهرمون الملوتن (LH)
الهرمون المنبِّه للخلية الميلانية (MSH)
الهرمون الدريقي (PTH)
السوماتوستاتين
الهرمون المنبه للدرقية (TSH)

B – المرسال الثانوي هو cGMP:

العامل الأذيني المدر للصوديوم (ANF)
أكسيد النتريك (NO) (أكسيد الآزوت)

C – المرسال الثانوي هو الكلسيوم أو فسفاتيديل الإينوزيتول (أو كليهما):

الأسيتيل كولين (مسكاريني)
الكاتيكولامينات الأدرينالية الفعل α_1
الأنجيوتنسين II
الهرمون المضاد للإدرار (ADH، الڤازوبريسين)
الكولي سيستوكينين
الجاسترين
الهرمون المطلق لموجهة الغدد التناسلية (GnRH)
الأوكسيتوسين (هرمون معجل للولادة)
عامل النمو المشتق من الصفيحات (PDGF)
المادة P
الهرمون المطلق للموجهة الدرقية (TRH)

D – المرسال الثانوي هو الكيناز أو شلال الفسفاتاز:

موجهة النمو الجسدي المشيمائية (CS)
عامل النمو البشروي (EGF)
مكونة الحمر (الإريثروبيوتين) (EPO)
عامل نمو الأرومات الليفية (FGF)
هرمون النمو (GH)
الإنسولين
عوامل النمو الشبيهة بالإنسولين (IGF-I، IGF-II)
عامل النمو العصبي (NGF)
عامل النمو المشتق من الصفيحات (PDGF)
البرولاكتين (PRL)

	المجموعة الأولى	المجموعة الثانية
الأنماط	الستيرويدات، الثيرونينات اليودية، الكالسيتريول، الريتينويدات	عديدات الببتيد، البروتينات، البروتينات السكرية، الكاتيكولامينات
الذؤوبية	أليفة للشحوم	أليفة للماء
البروتينات الناقلة	نعم	لا
العمر النصفي في البلازما	طويل (ساعات إلى أيام)	قصير (دقائق)
المستقبلة	داخل الخلية	الغشاء البلازمي
الوسيط	معقد مستقبلة ـ هرمون	cAMP، cGMP، Ca^{2+} مستقبلات الفسفوإينوزيتول المعقدة، شلالات الكيناز

الجدول 44-2 : الملامح العامة لأصناف (Classes) الهرمونات.

تتألف المجموعة الرئيسية الثانية من هرمونات ذوابة في الماء ترتبط بالغشاء البلازمي للخلية الهدف. وتتواصل الهرمونات التي ترتبط بسطح الخلايا مع العمليات الأيضية داخل الخلوية من خلال جزيئات متوسطة، تدعى المراسيل الثانوية (الثانية) (يكون الهرمون بحد ذاته هو المرسال الأول)، التي تتولد كنتيجة للتآثر بين اللجين والمستقبل. وقد ظهر مفهوم المرسال الثانوي من ملاحظة سوذرلاند (Sutherland) بأن الإبينفرين يرتبط بالغشاء البلازمي للكريات الحمر عند طير الحمام، ويرفع مستوى cAMP داخل الخلية. وتلا ذلك إجراء سلسلة من التجارب تبين فيها أن cAMP يتوسط التأثيرات الأيضية للعديد من الهرمونات.

ويعرض (الجدول 44-1) المجموعة A. II، الهرمونات التي تستخدم هذه الآلية بوضوح. وحتى وقتنا هذا يوجد هرمون واحد فقط هو العامل الأذيني المدر للصوديوم (ANF) يستخدم cGMP كمرسال ثان له، لكن يمكن غالباً إضافة

هرمونات أخرى إلى المجموعة II.B . ويبدو أن عدة هرمونات، كان يعتقد سابقاً أن الكثير منها يؤثر في cAMP، تستعمل الكالسيوم أو مستقبلات فسفاتيديل الإينوزيتول المعقدة (أو كليهما) كإشارة داخل الخلية. وهذه الهرمونات مبينة في المجموعة II.C. ويكون المرسال داخل الخلية للمجموعة II.D . هو شلال كيناز ـ فسفاتاز البروتينية. وقد تم تحديد العديد منها، ويمكن لهرمون معين أن يستخدم أكثر من شلال كيناز واحد.

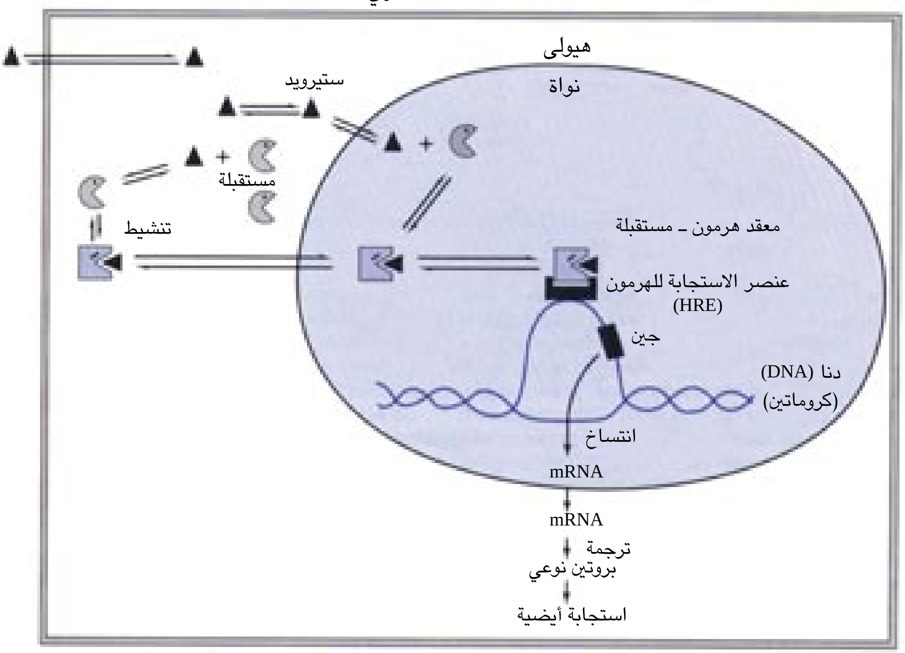
وتندرج بضعة هرمونات في أكثر من صف واحد، وتتغير التصنيفات مع ظهور معلومات جديدة.

لهرمونات المجموعة الأولى مستقبلات داخل الخلية، وتؤثر في التعبير الجيني:

يبين (الشكل 44-1) الملامح العامة لتأثير هذه المجموعة من الهرمونات، حيث تنتشر هذه الجزيئات الأليفة للشحم، خلال الغشاء البلازمي لكافة الخلايا، لكنها تلاقي مستقبلاتها النوعية ذات الألفة العالية فقط في الخلايا الهدف. ثم يخضع معقد هرمون ـ مستقبلة لتفاعل «تنشيط» معتمد على الحرارة والملح، يؤدي إلى تبدلات في الحجم والهيئة الفراغية والشحنة السطحية تجعله قادراً على الارتباط بالكروماتين. وفي بعض الحالات، كما في مستقبل القشرانيات السكرية، ينجم التنشيط عن تفارق المستقبل عن بروتين آخر، كبروتين الصدمة الحرارية 90 (Hsp90) ومايزال هناك جدل حول مكان حدوث هذا الارتباط وعملية التنشيط في الهيولى أو النواة، لكن هذا ليس أساسياً لفهم كامل العملية. ويرتبط معقد هرمون ـ مستقبل بمنطقة نوعية من الدنا (DNA) (تسمى عنصر الاستجابة الهرمونية)، وينشِّط أو يعطل جينات نوعية. وتتغير كميات البروتينات النوعية، وتتأثر العمليات الأيضية بالتأثير الانتقائي في انتساخ الجين وفي إنتاج أنواع الرنا المرسال (mRNA) المناسبة. ويكون تأثير كل من هذه الهرمونات نوعياً تماماً، ويؤثر الهرمون عموماً في أقل من 1٪ من البروتينات أو (mRNA) في الخلية الهدف. وتركز هذه المناقشة على الأفعال النووية للهرمونات الستيرويدية والدرقية والريتينويدية، لأنها

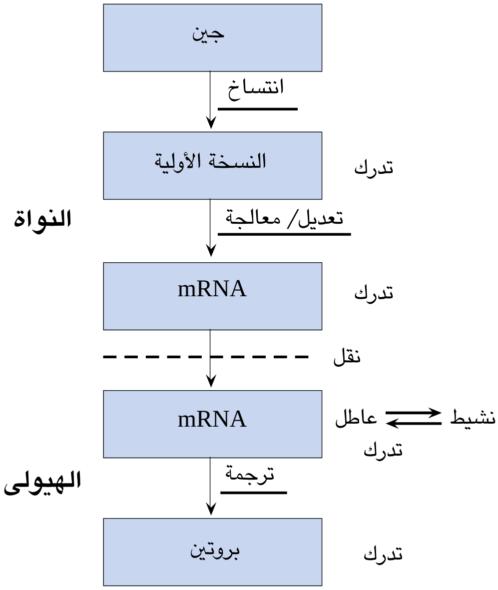
محددة جيداً. كما تم أيضاً وصف الأفعال المباشرة في الهيولى ومختلف العضيات والأغشية. وتفترض معظم الدلائل بأن الهرمونات الستيرويدية تمارس تأثيرها غالباً في انتساخ الجينات، لكن هذه الهرمونات، والعديد من تلك الموجودة في الأصناف الأخرى والمناقشة لاحقاً يمكنها أن تعمل عند أية خطوة من خطوات «سبيل المعلومات» الموضَّح في (الشكل 44-2). وعلى الرغم من أن الكيمياء الحيوية لانتساخ الجينات في خلايا الثدييات غير مفهومة جيداً، إلا أنه يمكن رسم الطراز العام للمتطلبات البنيوية للتنظيم الستيرويدي والدرقي لانتساخ الجينات (الشكل 44-3). ويجب أن تكون هذه الجينات في مناطق من الكروماتين «المفتوح» أو النشيط انتساخياً (مصور في الشكل 44-1 كفقاعة)، وذلك حسبما تحدد بمدى قابليتها للهضم بإنزيمات الدناز I (DNase I). ويكون للجينات المدروسة حتى يومنا هذا عنصران تنظيميان مستقلان على الأقل (مواضع التحكم) في تسلسل الدنا (DNA) مباشرة عند ´5 من موضع ابتداء الانتساخ (الشكل 44-3). وأول هذين العنصرين، هو العنصر المحرض (Promoter element;PE) الجنيس (Generic) لأنه يوجد بشكل أو بآخر في كل الجينات. ويحدد هذا العنصر موضع ارتباط بوليميراز الرنا II RNA II بالدنا (DNA)، وبالتالي دقة ابتداء الانتساخ (الفصل 41).

لقد حدد العنصر الثاني، عنصر الاستجابة الهرمونية (HRE)، في العديد من الجينات المنظمة بالهرمونات الستيرويدية. وهو يتوضَّع في الموضع ´5 أبعد بقليل عن العنصر المحرض PE وقد يتألف من عدة عناصر متميزة. ومن المعتقد أن عنصر الاستجابة الهرمونية (HRE) يعدّل تواتر ابتداء الانتساخ، ويكون أقل اعتماداً على الموضع والتوجه، وهو في هذا الشأن يماثل العناصر المعززة للانتساخ الموجودة في جينات أخرى (الفصل 41). وعموماً، يكون موجوداً ضمن بضعة مئات من النوكليوتيدات أعلى موضع ابتداء الانتساخ، لكن يختلف موضعه الدقيق من جين إلى آخر. ففي بعض الحالات، يتوضع ضمن الجين. ويكون للجينات المراقبة بعدة هرمونات عدد مناسب من HREs. وقد ذُكرت أمثلة حديثة عن تنظيم انتساخ الجين بهرمونات القشرانيات السكرية، في غياب الارتباط المباشر لمستقبلة القشراني السكري بالمركب GRE. وفي مثل هذه الحالات، ترتبط المستقبلة من خلال تآثر بروتيني بروتيني ببروتين ارتباط آخر بالدنا (DNA) مثل AP-1.

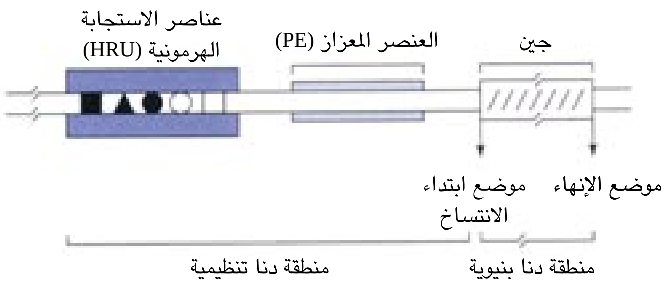


الشكل 44-1 : رتبط الهرمونات الستيرويدية أو الريتينويدات أو الدرقية بمستقبل داخل الخلية وتسبب تبدلاً في الهيئة الفراغية للمستقبل. ثم يرتبط هذا المستقبل بمنطقة نوعية في الدنا (DNA)، هي HRE، ويؤدي هذا التآثر، بالاقتران مع عوامل الانتساخ الأخرى، إلى تنشيط أو كظم عدد محدد من الجينات. انظر الأشكال (44-4) و (44-5) و (44-6) للمزيد من التفصيل.

على الرغم من أن التفاعلات الأولية تكون مختلفة، إلا أن الهرمونات الببتيدية تبدي تأثيراتها في الانتساخ من خلال HREs. فعلى سبيل المثال، يؤثر العديد من الهرمونات التي تستخدم cAMP كمرسال ثانوي، في عملية الانتساخ. وهناك بروتين خاص، هو بروتين ارتباط عنصر الاستجابة للـcAMP (CREB)، هو الذي يكون عامل التأثير المفروق (مضاهئ لمستقبلة الهرمون الستيرويدي أو الدرقي) في هذه الأمثلة. وقد تم تحديد تسلسلات الدنا DNA التوافقية. لعدد من HREs (الجدول 44-3).



الشكل 44-2 : «سبيل المعلومات». يمكن للهرمونات أن تؤثر في أي من هذه الخطوات.



الشكل 44-3 : الاحتياجات البنيوية لتنظيم الإنتاج الجيني بوساطة الهرمونات.

الهرمون أو المستفعل	HRE	تسلسل الـدنا(DNA)
القشرانيات السكرية	GRE	
البروجستينات	PRE	GGTACA ← NNN TGTTCT →
القشرانيات المعدنية	MRE	
الأندروجينات	ARE	
الإستروجينات	ERE	AGGTCA ← ---- TGA/TCCT →
الهرمون الدرقي	TRE	
حمض الريتينويك	RARE	AGGTCA ← N3،4،5 AGGTCA ←
القيتامين D	VDRE	
cAMP	CRE	TGACGTCA

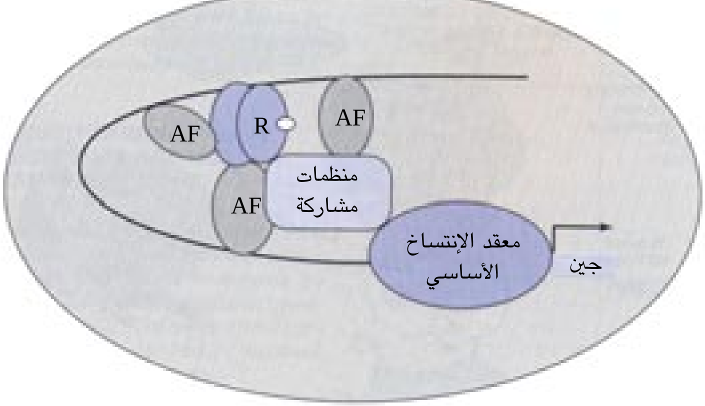
الجدول 44-3 : الملامح العامة لصفوف الهرمونات. تسلسلات الـدنا (DNA) لعدد من عناصر الاستجابة الهرمونية HREs1.

تشير الأحرف إلى النوكليوتيد، ويعني N أي واحد من الأربع التي يمكن أن تستخدم في ذلك الموضع. تشير الأسهم المقطوعة في اتجاهين متعاكسين إلى التنكسات المعكسية الناقصة قليلاً الموجودة في عدة HREs؛ والتي تسمى في بعض الحالات «مواضع الارتباط النصفي»، لأن كل منها يربط موحوداً واحداً من المستقبل. تتألف GRE و PRE وMRE و ARE من تسلسل الدنا (DNA) نفسه. وقد تنجم النوعية عن التركيز داخل الخلوي للجين أو لمستقبل الهرمون، أو عن تسلسلات الدنا الجانبية غير المتضمنة في المجموعة أو عن عناصر ملحقة أخرى. وتضم مجموعة ثانية من HREs تلك الخاصة بالهرمونات الدرقية والإستروجينات وحمض الريتينويك والقيتامين D. وتكون هذه الـ HREs متماثلة، باستثناء التوجه والفضوة بين التنكسات النصفية. وتحدد الفضوة النوعية الهرمونية. وترتبط VDRE (N=3) وTRE (N=4) وRARE (N=5) بتكررات مباشرة أكثر من ارتباطها بتكررات معكسية. ويشكل عنصر آخر من الفصيلة الكبيرة للمستقبلات الستيرويدية، أي مستقبل الريتينويد X (RXR)، مثنويات متغايرة مع VDR وTR و RAR ، وتشكل هذه عوامل التأثير المفروق. ويؤثر cAMP في الانتساخ الجيني من خلال CRE.

يستلزم تعيين هوية HRE، ربطه بمعقد هرمون ـ مستقبلة بإحكام أكثر مما يفعله الدنا (DNA) أو الرنا (RNA) المحيط من مصدر آخر. وقد تم توضيح مثل هذا الارتباط النوعي في الحالات المذكورة آنفاً. ويجب أن يعطي HRE استجابة هرمونية أيضاً. ويمكن للدنا (DNA) السلسلي المنظم الافتراضي أن يرتبط بجينات مقررة لتقدير هذا الأمر. وتحوي «جينات الاندماج أو الالتحام» هذه على جينات مقررة لا تتأثّر عادة بالهرمون. ولا تعبِّر هذه الجينات في أغلب الأحيان عن نفسها بشكل سوي في النسيج المدروس. الجينات المقررة المستخدمة بشكل شائع هي الجلوبين وهرمون النمو وناقلة أسيتيل الكلورامفينيكول الجرثومية واللوسيفيراز؛ حيث يدخل الجين المقرر إلى الخلية الهدف، فإذا كان الهرمون الآن ينظم انتساخ الجين المقرر، فإنه يكون محدداً من الناحية الوظيفية بأنه HRE.

ويمكن تحديد تأثيرات الموضع والتوجه واستبدال الأسس بشكل دقيق وفقاً لهذه الطريقة (التقانة). أما كيف يقوم تآثر مستقبل ـ هرمون مع HRE بالتأثير في الانتساخ بدقة فيقع ضمن مجال الاستقصاء النشيط. ويعد ابتداء الانتساخ مقراً ممكناً للمراقبة (للتحكم)، لكن قد تحدث تأثيرات في التطويل والإنهاء. وقد اقترحت أماكن مقرات المراقبة أبعد من ´5 من مقر الابتداء أو ´3 أدنى، إما ضمن الجين أو وراءه. ويمكن في النهاية أن، تؤثر أيضاً، آليات مراقبة تعمل بشكل مفروق (مثلاً من كروموسوم آخر).

تفترض الدلائل الحديثة أنه، على الرغم من أن HREs البسيطة تنقل الاستجابة الهرمونية، فإن الأمور تكون أكثر تعقيداً في العديد من الجينات. وينبغي أن يرتبط HRE مع عناصر أخرى (وبروتينات ارتباط مرافقة) ليقوم بوظيفته بالشكل الأمثل ويطلق على مثل هذه المجموعات من عناصر الدنا (DNA) ذات العمل المقرون والعوامل ذات العمل المفروق تسمية وحدات الاستجابة الهرمونية (HRUs). وبذلك تتألف وحدة الـ HRU من واحدة أو أكثر من HREs ومن واحد أو أكثر من عناصر الدنا (DNA) مع عوامل ملحقة مرافقة (انظر الشكل 44-4) وفي المحرضات المعقدة ـ المنظمة بهرمونات مختلفة ـ فإن بعض مكونات العوامل الملحقة في HRU واحدة (قشراني سكري) قد تكون جزءاً من تلك الخاصة بواحدة أخرى (حمض الريتينويك).

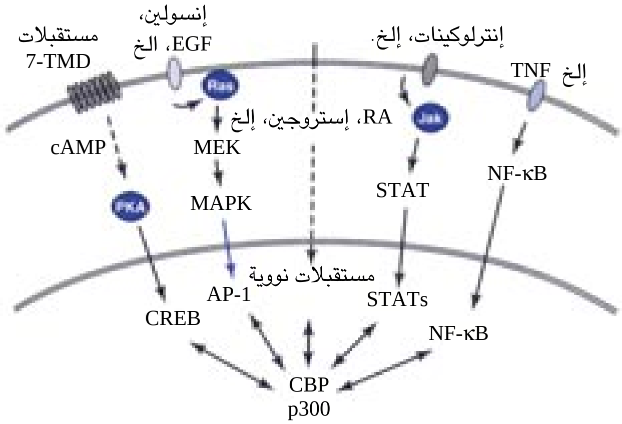


الشكل 44-4 : وحدة الاستجابة الهرمونية (HRU)، وهي من مجموعة من عناصر الدنا (DNA) والبروتينات المرتبطة. ويكون عنصر الاستجابة الهرمونية هو المكون الأساسي فيها مع مستقبل مرتبط باللجين. وتحظى عناصر العامل الإضافية (AF) بأهمية أيضاً إلى جانب عوامل الانتساخ. ويمكن لـ AFs أن تتآثر مع بعضها بعضاً أو مع المستقبلات النووية. وتتواصل مكونات الـ HRU مع آلية الانتساخ الأساسية من خلال معقد منشط مشارك.

وقد يؤمن هذا الترتيب تكامل الاستجابات الأيضية المعقدة. يتحقق التواصل بين HRU وجهاز الانتساخ القاعدي (الفصل 41) بصف أو أكثر من الجزيئات ذات التنظيم المشارك. وأول هذه الجزيئات الموصوفة كان البروتين الرابط للـ CREB، أو كما يدعى CBP. ويرتبط CBP من خلال منطقة بالنهاية الأمينية مع السيرين المفسفت 137 في CREB، ويتواسط التنشيط العابر في الاستجابة لـ cAMP. لذلك يوصف بأنه منشط مشارك. ويتآثر CBP وقريبه الوثيق P300 مع عدد من جزيئات الإشارة، ومنها البروتين -1 المنشط (AP-1) وعناصر تنبيغ الإشارة ومنشطات الانتساخ (STATS) والمستقبلات النووية و CREB.

ويرتبط CBP/P300 أيضاً بالفصيلة P160 من المنشطات المشاركة التي ستوصف لاحقاً، وبعدد من البروتينات الأخرى، منها عامل الانتساخ الڤيروسي Ela وكيناز البروتين والهيليكاز A الخاص بالرنا (RNA). ومن المهم ملاحظة أن

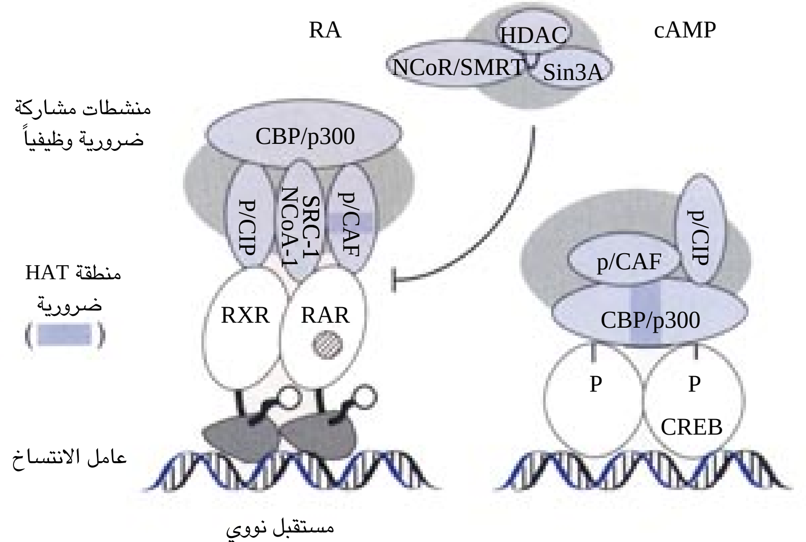
CBP/P300 تمتلك فعالية ناقلة أسيتيل الهيستون الداخلي (HAT). وسنشرح أهمية ذلك لاحقاً. ويوضح (الشكلان 44-5 و 44-6) بعضاً من الأفعال العديدة لـ CBP/P300، الذي يبدو أنه يعتمد على فعاليات إنزيمية داخلية، وعلى قدرته على العمل كمرتكز لارتباط بروتينات أخرى.



الشكل 44-5 : تلتقي سبل تنبيغ الإشارة المتعددة عند CBP/P300. كما تلتقي في النهاية اللجائن التي ترتبط مع مستقبلات نووية أو غشائية عند CBP/P300. ويجري استخدام العديد من سبل تنبيغ الإشارة المختلفة.

لقد تم وصف ثلاث فصائل أخرى من الجزيئات المنشطة المشاركة، لها كتلة جزيئية نحو 160 ك. دالتون. وتشمل هذه الأفراد من الفصيلة P160 للمنشطات المشاركة كلاً من (1) SRC-1 و NCoA-1، (2) و GRIP1 و TIF2 و NCoA-2، (3) وP/CIP و ACTR و AIBI و RAC3 و TRAM-1 (الجدول 44-4). وغالباً ما تمثّل الأسماء المختلفة للعناصر ضمن فصيلة فرعية الاختلافات المتعلقة بالنوع أو ضروباً بينية بسيطة. وهناك نحو 35٪ من التماثل في الأحماض الأمينية بين أفراد مختلف الفصائل الفرعية. وتتشارك المنشطات المشاركة P160 بعدد من الخصائص فهي (1) تربط المستقبلات النووية بأسلوب معتمد على المنطقة الشادة (الناهضة) ومنطقة التنشيط العابر AF_2، (2) تمتلك للنموذج حلزون ـ عروة ـ حلزون القاعدي للنهاية

الأمـينيـة المحـفـوظة (bHLH) (انظر الفـصل 41)، (3) وتمتلك منطقـة تنشـيط عـابر ضعيفة بالنهاية الكربوكسيلية ومنطقة تنشيط عـابر أقوى بالنهاية الأمينية في منطقة ضـرورية للتـآثر CBP/P160، (4) تحـوي ثلاث على الأقل من النمـاذج LXXLL الضرورية للتآثر بروتين ـ بروتين مع منشطات مشاركة أخرى، و (5) غالباً ما تمتلك فعالية الـ HAT.



الشكل 44-6 : تشارك مجموعة معقدة من المنظمات المشاركة في تنظيم الانتساخ. إن تنظيم الانتساخ بوساطة حمض الريتينويك (RA، دائرة مخططة) موضح في الجانب الأيسر من الشكل. يرتبط مستقبل RA المرتبط باللجين (RARـ RAR) (RARE بشكل مثنوي غيري مع RXR. ويشكل كل من P/CAF و SRC-1/NcoA-1 نقاط تماس مباشر مع RAR كجزء من معقد كبير يحوي أيضاً P/C1P و CBP/P300. وتكون فعالية HAT التابعة لـ P/CAF مهمة لتنشيط الانتساخ بوساطة هذا المعقد. وفي غياب اللجين يرتبط المعقد، الذي يحوي NCoR/SMRT و Sin3A ونازعة أسيتيل الهيستون (HDAC)، بالمعقد RAR/RXR ويثبط الانتساخ. وبالمقابل، كما هو مبين في الجانب الأيمن: إن فسفتة الـ CREB تجذب المعقد المعتمد على CBP/P300 والذي يتكون من P/CAF و P/C1P وفي هذه الحالة، فإن فعالية HAT التابعة لـ CBP/P300، وليس لـ P/CAF، تكون مهمة.

إن دور الكثير من هذه المنشطات المشاركة ما يزال يتطور. ويبدو أن تدابير معينة هي المسؤولة عن أفعال نوعية محرضة باللجين من خلال مستقبلات مختلفة، وهذا ما يوضحه (الشكل 44-6). الجدير ذكره هنا أن دور الـ HAT مثير على نحو خاص، حيث تؤدي الطفرات في منطقة HAT إلى عجز العديد من عوامل الانتساخ هذه. ويُعتقد حالياً أن فعاليات HAT هذه، التي تُظهر نوعية مجموعية أيضاً (الشكل 44-6)، تقوم بأستلة الهيستونات، وتؤدي إلى إعادة تشكيل الكروماتين ضمن وسط مناسب للانتساخ. ووفقاً لهذه الفرضية، يترافق نزع أسيتيل الهيستونات مع تعطيل الانتساخ.

I– الفصيلة 300 ك. دالتون من المنشطات المشاركة	
CBP	بروتين رابطة لـ CREB
P300	بروتين وزنه 300 ك. دالتون
II– الفصيلة 160 ك. دالتون من المنشطات المشاركة	
SRC-1 .1	المنشط المشارك I لمستقبل الستيرويد
NCoA .1	المنشط المشارك I للمستقبل النووي
TIF2 .2	العامل 2 المتوسط الانتساخي
GRIPI	بروتين تآثر مستقبل القشراني السكري
NCoA .2	المنشط المشارك 2 للمستقبل النووي
P/CIP .3	البروتين 1 المرتبط بالمتمم المساعد P300/CBP
ACTR	منشط مستقبلات الدرقية وحمض الريتينويك
AIB	يكون مضخماً في سرطان الثدي
RAC3	المنشط المشارك 3 للمرتبط بالمستقبل
TRAM-1	الجزيء المنشط لـ TR
III– الكابتات (الكواظم) المشاركة	
NCoR	الكاظم المشارك للمستقبل النووي
SMRT	الوسيط الصامت لـ RXR و TR

الجدول 44-4 : البروتينات ذات التنظيم المشارك في الثدييات.

يؤدي نزع معقد الكاظم المشارك في بعض الحالات من خلال التآثر بين اللجين والمستقبل إلى تنشيط الانتساخ. فعلى سبيل المثال، تكون مستقبلات الهرمونات الدرقية أو حمض الريتينوئيك بغياب الهرمون مرتبطة بمعقد الكاظم المشارك الذي يحوي N-CoR أو SMRT وبروتينات مرافقة، التي يكون لبعضها فعالية نازعة أسيتيل الهيستونات. ويكظم الجين الهدف إلى حين ارتباط الهرمون بالمستقبل الدرقي، مما يؤدي إلى تفارق هذا المعقد، ويلي ذلك تنشيط الجين (الشكل 44-6).

لهرمونات المجموعة II (الببتيدية) مستقبلات غشائية، وهي تستعمل مراسيل داخل الخلية:

يكون العدد الأكبر من الهرمونات ذواباً في الماء، وليس لها بروتينات ناقلة (وبذلك يكون عمرها النصفي قصيراً في البلازما)، وهي تطلق استجابة بالارتباط مع مستقبل متوضع في الغشاء البلازمي (الجدولان 44-1 و 44-2). ويمكن مناقشة آلية عمل هذه المجموعة من الهرمونات بشكل أفضل بالحديث عن مراسيلها داخل الخلوية.

إن cAMP هو المرسال الثانوي للعديد من الهرمونات:

يقوم الـ cAMP (حمض ´3، ´5 – أدينيليك أو AMP الحلقي، انظر الشكل 5-20)، وهو نوكليوتيد موجود في كل مكان، ومشتق من الـ ATP من خلال فعل إنزيمات سيكلاز (محلقة) الأدينيليل، بلعب دور حاسم في فعل عدد من الهرمونات. حيث يزداد مستوى cAMP داخل الخلية أو ينقص بتأثير هرمونات مختلفة (الجدول 44-5)، ويتغير هذا التأثير من نسيج إلى آخر. فالإبينفرين يسبب زيادة كبيرة في cAMP في العضلات وتغيرات قليلة نسبياً في الكبد. ويكون العكس صحيحاً بالنسبة للجلوكاجون. وتقوم الأنسجة التي تستجيب لهرمونات متعددة من هذه المجموعة بتحقيق ذلك من خلال مستقبلات مستقلة تنظم فعالية جزيء سيكلاز الأدينيليل. وأفضل مثال على ذلك هو الخلية الشحمية، حيث يقوم كل من الإبينفرين و ACTH وTSH والجلوكاجون و MSH والفازوبريسين (ADH) بتنبيه سيكلاز الأدينيليل وبزيادة cAMP. ولا تكون ظروف التراكيز ذات الفاعلية الأعظمية مؤاتية،

والمعالجات التي تخرب مستقبل ما لا تؤثر في الاستجابة الخلوية تجاه الهرمونات الأخرى.

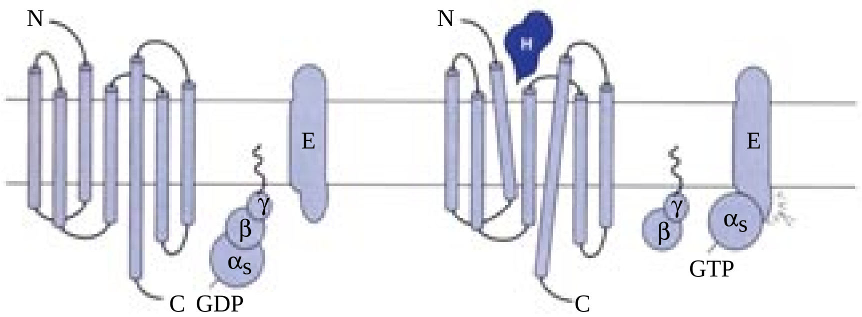
1 – جملة سيكلاز الأدينيليل: يوضح (الشكل 44-7) مكونات هذه الجملة في خلايا الثدييات. حيث يؤدي التآثر بين الهرمون ومستقبله إلى تنشيط أو تعطيل سيكلاز الأدينيليل أو بعض من الجزيئات المستفعلة الأخرى. وقد وصفت لاحقاً المستقبلات التي تقترن بالمستفعلات من خلال وسيط بروتيني رابط للـ GTP، بشكل نموذجي، وهي تمتلك سبع مناطق عابرة للغشاء كارهة للماء. وهذا ما يبينه (الشكل 44-7). ويتوسط تنظيم سيكلاز الأدينيليل اثنان على الأقل من البروتينات المنظمة المعتمدة على GTP تدعى G_s (المنبه) و G_I (المثبط)، ويتكون كل منها من ثلاث وحيدات هي α و β و γ. ويحفز سيكلاز الأدينيليل المتوضع على السطح الداخلي من الغشاء البلازمي تشكيل cAMP من الـ ATP بوجود المغنيسيوم (الشكلان 44-8 و 35-13).

إن ما كان يعتقد في البداية على أنه بروتين وحيد فيه منطقتين وظيفيتين، ينظر إليه الآن على أنه جملة في غاية التعقيد. وقد أثبتت عدة دراسات التفرد الكيميائي الحيوي للمستقبل الهرموني ولمعقد البروتين المنظم لـ GTP ولسيكلاز الأدينيليل (الشكل 44-7).

الهرمونات التي تنبه سيكلاز الأدينيليل (Hs)	**الهرمونات التي تثبط سيكلاز الأدينيليل (Hs)**
ACTH	الأسيتيل كولين
ADH	α_2 – أدرينالية الفعل
β– أدرينالية الفعل	الأنجيوتنسين II
الكالسيتوتين	السوماتوستاتين
CRH	
FSH	
الجلوكاجون	
hCG	
LH	
LPH	
MSH	
PTH	
TSH	

الجدول 44-5 : التصنيف الفرعي لهرمونات المجموعة II.A

يمكن أن تقوم هرمونات ببتيدية مختلفة بتنبيه (s) أو بتثبيط (I) إنتاج cAMP (الجدول 44-5). وتتلاقى جملتان متوازيتان، المنبهة (s) والأخرى المثبطة (I)، عند جزيء حفاز وحيد (C). وتتألف كل منهما من مستقبلة، R_s أو R_I، ومعقد منظِّم، G_s و G_i. حيث أن كلاً من G_s و G_I ثلاثيات قسيمة (مثلوثات) مكونين من الوحيدات α وβ و γ . ولأن الوحيدة γ في G_s تختلف عن تلك في G_I، لذلك يسميان البروتين α_s (45 ك. دالتون) والبروتين α_1 (41 ك. دالتون). أما الوحيدتان β و γ فهما بروتينان بوزن 37 ك. دالتون و 9 ك. دالتون على التوالي. وتكون الوحيدات β و γ مترافقتين دائماً ($\gamma\beta$–) ويبدو أنهما يقومان بوظيفتهما كمثنوي متغاير. ويؤدي ارتباط هرمون ما بـ R_s أو R_I إلى تنشيط G المتواسط بالمستقبلة، والذي يتطلب ارتباط الـ GTP آز المعتمد على Mg^{2+} بـ α وإلى تفارق آني لـ $\beta\gamma$ عن α.



لا يوجد هرمون: مستفعلة عاطلة — هرمون مرتبط (H): مستفعلة نشيطة

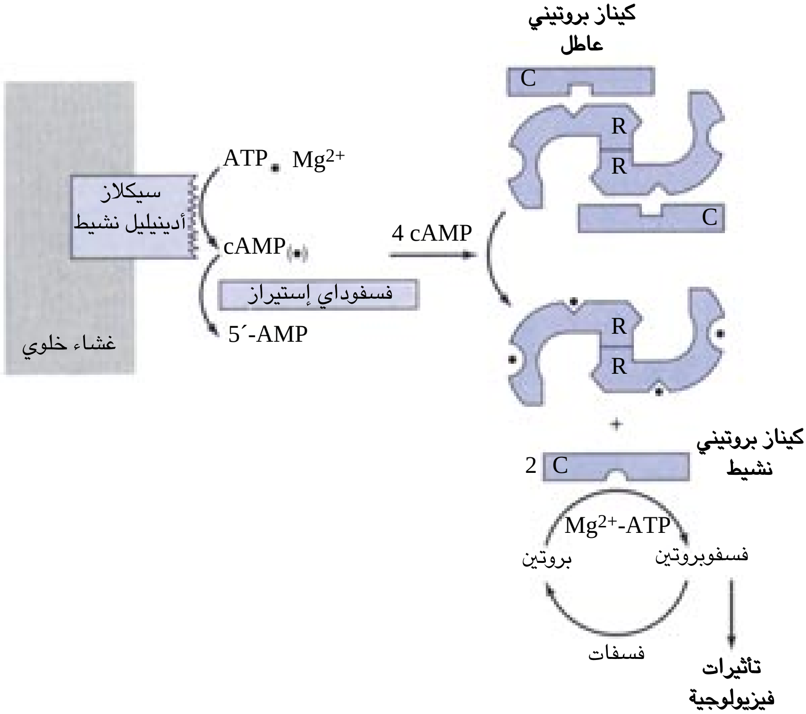
الشكل 44-7 : مقومات الجملة المستفعلة للبروتين G– المستقبلة الهرمونية. تمتلك المستقبلات التي تقترن بالمستفعلات من خلال البروتينات G سبع مناطق عابرة للغشاء على نحو نموذجي. وفي غياب الهرمون (لليسار)، يكون المعقد البروتيني G– المثلوث الغيري (α،β،γ) عاطلاً، بشكل مرتبط بثنائي فسفات الجوانوزين (GDP) ولا يكون على الأغلب مرتبطاً بالمستقبل. ويرتكز هذا المعقد على الغشاء البلازمي من خلال زمرة برينيلية على الوحيدات $\gamma\beta$ (الخطوط المتموجة) وربما بوساطة زمر الميريستويل على الوحيدات α. وعند ارتباط الهرمون بالمستقبل، يكون هناك تبدل فراغي شكلي مفترض في المستقبل وتنشيط لمعقد البروتين -G. وهذا ينتج عن تبادل الـ GDP وثلاثي فسفات الجوانوزين (GTP)عند الوحيدات α، وتتفارق بعد ذلك الوحيدات α و $\beta\gamma$. وترتبط الوحيدة α بالمستفعلة (E) وتنشطها. ويمكن أن تكون E سكيلاز الأدينيليل (α_s)، كما هو مبين في هذا الشكل أو قد تكون قناة K^+ (α_I,α_O)، أو فسفولبياز Cβ(α_q)، أو جزيء آخر. ويمكن أن يكون للوحيدة $\gamma\beta$ تأثيرات مباشرة على E أيضاً.

$$abg \underset{CTPase}{\overset{GTP}{\rightleftharpoons}} a.GTP + bg$$

تتمتع الـ α_s بفعالية GTP آز داخلية، ويكون الشكل النشيط "α_s.GTP"معطلاً إلى حين حلمهة GTP إلى GDP، ويعاد تشكيل المعقد G_s ثلاثي القسيمة. ويسبب ذيفان الكوليرا (Cholera toxin)، المعروف بأنه منشط غير عكسي للسيكلاز، ضم الريبوزيل -ADP إلى α_s، وبهذا الشكل يعطل GTP آز، لذلك يتجمد α_s في الشكل النشيط. وتتمتع الـ α_I بفعالية GTP آز أيضاً، إلا أن الـ GDP لا يتفارق بحرية عن "α_i.GDP"، ويعاد تنشيط α_i بتبادل الـ GTP مع الـ GDP. وينشط ذيفان الشاهوق (السعال الديكي) (Pertussis toxin) سيكلاز الأدينيليل بشكل لا عكسي بتحريض إضافة ريبوزيل -ADP إلى الوحيدة α_i مانعاً إياها من أن تكون نشيطة. ولم يتحدد بعد الدور الدقيق للوحيدات α و $\beta\gamma$ المختلفة في تنظيم سيكلاز الأدينيليل. ويمكن للـ α_i أن تنبه السيكلاز بشكل مباشر، ويعزز $\beta\gamma$ هذا التنشيط في حالات معينة. ويكون تثبيط السيكلاز أكثر تعقيداً. ومن الصعب كشف التأثيرات المثبطة المباشرة لـ α_i في السيكلاز. ومع أن بعض أشكال $\beta\gamma$ يمكن أن تثبط السيكلاز إلا أن هناك فرضية أكثر رواجاً تقول بأن المعقد $\beta\gamma$ للـ G_i، الذي يسود أكثر من G_s، يرتبط بـ α_s ويعطله.

لقد أصبح واضحاً الآن أنه توجد فصيلة كبيرة من البروتينات G، وأنها جزء من الفصيلة الأكبر لإنزيمات الـ G TP آز. ويمكن تصنيف فصيلة البروتينات G بحسب تماثل التسلسل إلى أربعة طوائف كما هو موضح في (الجدول 44-6). وهناك 16 جيناً للوحيدات α و 6 جينات للوحيدات β و 12 جيناً للوحيدات γ. وقد تم تحديد ثماني جزيئات متميزة لسيكلاز الأدينيليل. وتوفر المجموعات المختلفة من هذه الوحيدات عدداً كبيراً من المعقدات $\alpha\beta\gamma$ المحتملة. ويكون للوحيدات α والمعقد $\beta\gamma$ أفعالاً مستقلة عن تلك التي في سيكلاز الأدينيليل. وتنبه بعض أشكال α_i قنوات الـ K^+ وتثبِّط قنوات الـ Ca^{2+}، كما يكون لبعض جزيئات α_s تأثيرات معاكسة. وينشط أفراد الفصيلة Gq مجموعة الفسفوليباز C من الإنزيمات. وتكون المعقدات $\beta\gamma$

مرتبطة مع تنبيه قنوات الـ K^+ وتنشيط الفسفوليباز C.وتساهم البروتينات G في العديد من العمليات البيولوجية المهمة، إضافة إلى آلية العمل الهرموني. ويعرض (الجدول 44-6) بعضاً منها.



الشكل 44-8 : التنظيم الهرموني للعمليات الخلوية من خلال إنزيمات الكيناز البروتينية المعتمدة على cAMP. يتولد cAMP بتأثير سيكلاز الأدينيليل (التي يتم تنشيطها كما هو مبين في الشكل 44-7) التي ترتبط بالوحيدة التنظيمية (R) في الكيناز البروتيني المعتمد على -cAMP. وهذا يؤدي إلى تحرير الوحيدة التحفيزية (C) وتنشيطها.

إن أهمية هذه المكونات هي موضوع العديد من التجارب في الطبيعة فعلى سبيل المثال، يعد قصور الدريقية الكاذب متلازمة تتميز بنقص كالسيوم الدم وفرط فسفا الدم وهي المشعرات الكيميائية الحيوية المميزة لقصور الدريقية، كما تتميز بعدد من العيوب الولادية. ولا يكون لدى الأفراد المصابين عيوب في وظيفة الدريقات، لكن في الواقع هم يفرزون كميات كبيرة من الباراثورمون PTH الفعال حيوياً. ويكون لدى

بعضهم مقاومة في العضو الهدف على أساس وجود عيب متوضع بعد المستقبل. ويكونون معوزين جزئياً بالبروتين G (على الأغلب الوحيدة α_s فقط)، ولذلك فهم يخفقون بالارتباط المقترن بتنبيه سيكلاز الأدينيليل. في حين يبدو أن بعضهم الآخر يولِّدون cAMP استجابة لـ PTH، لكنهم لا يستجيبون لإشارة cAMP. وليس غريباً أن نلاحظ أن المصابين بقصور الدريقية الكاذب غالباً ما يظهرون دلائل على استجابات معيبة تجاه الهرمونات الأخرى، ومنها TSH والجلوكاجون والعوامل أدرينالية الفعل ـ بيتا β.

2 – **الكيناز البروتيني**: يرتبط cAMP في خلايا طليعيات النوى ببروتين نوعي، يسمى البروتين المنظم للمقيضة (الناتج عن التقويض) CRP، الذي يرتبط مباشرة بالدنا DNA ويؤثر في التعبير الجيني. ويكون تماثل هذا الارتباط مع الفعل الهرموني الستيرويدي الموصوف سابقاً واضحاً. أما في حقيقيات النوى فإن cAMP يرتبط بكيناز بروتيني، والذي يكون جزيء غيري رباعي القسيمات مؤلف من وحيدتين منظمتين (R) ووحيدتين محفزتين (C). ويؤدي ارتباط cAMP إلى التفاعل التالي:

$$4cAMP + R_2C_2 \rightleftharpoons R_2.(4cAMP) + {}_2C$$

ولا يملك المعقد R_2C_2 فعالية إنزيمية، لكن ارتباط cAMP بـ R يؤدي إلى تفارق R عن C، وبذلك يتم تنشيط هذا الأخير (الشكل 44-8). وتحفز الوحيدة C النشيطة نقل الفسفات γ التابع لـ $ATP (Mg^{2+})$ إلى ثمالة السيرين أو الثريونين في أنواع مختلفة من البروتينات. والمواضع التوافقية للفسفتة هي -Arg-Arg-X-Ser و Lys-Arg-X-X-Ser – حيث يمكن أن تكون X أي حمض أميني.

وقد وصفت فعاليات الكيناز البروتيني في البداية على أنها معتمدة على cAMP أو مستقلة عنه. وقد أصبح هذا أيضاً أكثر تعقيداً، لأنه معروف الآن أن فسفتة البروتين هي آلية تنظيمية مهمة. وقد تم وصف أكثر من 100 كيناز بروتيني، لكل منها جزيء متميز مع تباين ملحوظ فيما يتعلق بتركيب الوحيدة والوزن الجزيئي والفسفتة الذاتية و K_m الأتب ATP ونوعية الركيزة.

الصف أو النمط	المنبه	المستفعل	التأثير
Gs			
α_s	الجلوكاجون، أدرينالية الفعل-β	↑ سيكلاز الأدينيليل	استحداث السكر
α_{01F}	الأدورانت (Odorant)	↑ سيكلاز الأدينيليل	تحلل الشحوم، تحلل الجليكوجين الشم
Gi			
α_{11}	الأسيتيل كولين	↓ سيكلاز الأدينيليل	
α_{12}	أدرينالية الفعل α_2	↑ قنوات البوتاسيوم	سرعة القلب بطيئة
	M2 كولينية الفعل	↑ قنوات البوتاسيوم	
α_0	الأفيونات، الإندورفينات	↓ قنوات الكالسيوم	نشاط كهربائي
α_{-t}	الضوء	↑ فسفوداي استيراز cGMp	عصبوني الرؤية
Gq			
α_q	MI كولينية الفعل		
	α_1 – أدرينالية الفعل	↑ الفسفوليباز B1-C	↑ التقلص العضلي
α_{11}	α_1 – أدرينالية الفعل	↑ الفسفوليباز B2-C	↑ ضغط الدم
G12			
α_{12}	؟	؟	؟

الجدول 44-6 : صفوف البروتينات G ووظائفها*.

**تعتمد الصفوف أو الفصائل الأربع الرئيسية للبروتينات G عند الثدييات (G_s و G_i و G_q و G_{12}) على تماثل التسلسل البروتيني. وقد عرضت العناصر الممثلة لكل فصيلة إلى جانب المنبهات المعروفة والمستفعلات والتأثيرات الحيوية المحددة جيداً . وقد تم تحديد أكثر من 20 وحيدة ألفا مختلفة.*

3 – **البروتينات الفسفورية**: يعتقد أن تأثيرات cAMP في خلايا حقيقيات النوى تكون جميعاً متواسطة بفسفتة البروتين ونزع الفسفات منه. ويمكن أن يُعزى التحكم بأي من تأثيرات cAMP، التي تشمل مختلف العمليات مثل استحداث الستيرويدات والإفراز ونقل الأيونات وأيض السكريات والشحميات والتحريض الإنزيمي وتنظيم الجينات ونمو الخلايا وتنسخها، إلى كيناز بروتيني نوعي أو لفسفاتاز نوعية أو لركائز نوعية للفسفتة. تم، في حالات معينة، تحديد بروتين فسفوري تبين أنه مساهم معروف في سبيل أيضي، لكن في أغلب العمليات المذكورة أعلاه لم تحدد البروتينات الفسفورية المساهمة فيها. وقد تساعد هذه الركائز في تحديد النسيج الهدف، وهي تسهم بلا شك في تعيين درجة الاستجابة في خلية معينة. ويمكن فسفتة العديد من البروتينات، ومنها الكازيين والهيستونات والبروتامينات، وقد تكون عمليات الفسفتة هذه ظواهر عارضة (إضافية)، مع أنها مفيدة لتقدير فعالية الكيناز البروتيني. وقد كانت الأفعال الوحيدة العائدة للـ cAMP والتي تم تحديدها منذ وقت قريب هي تلك التي تحدث خارج النواة، أما الآن فقد وصفت تأثيرات الـ cAMP في انتساخ عدة جينات. ويبدو أن هذه التأثيرات يتوسطها بروتين الـ CREB الموصوف سابقاً.

4 – **إنزيمات الفوسفو داي إستيراز**: يمكن إنهاء الأفعال الناجمة عن الهرمونات التي ترفع تركيز الـ cAMP بعدة طرق، منها حلمهة الـ cAMP بإنزيمات الفسفودي إستيراز. حيث يضمن وجود إنزيمات الحلمهة هذه انقلاباً سريعاً بالإشارة (أي cAMP)، ومن ثم إنهاء سريعاً للعملية البيولوجية حالما يزال التنبيه الهرموني. وتوجد إنزيمات فسفودي إستيراز الـ cAMP بأشكال ذات K_m منخفضة ومرتفعة، وهي نفسها تكون معرضة للتنظيم الهرموني وكذلك للتنظيم بمراسيل داخل خلوية كالكالسيوم، الذي يعمل على الأرجح من خلال الكالمودولين. وتقوم مثبطات الفوسفو دي أستيراز، وبشكل خاص مشتقات الزنتين الميثيلية كالكافيين، بزيادة الـ cAMP داخل الخلية وتحاكي أو تطيل أفعال الهرمونات.

5 – **إنزيمات فسفاتاز البروتينات الفسفورية**: إحدى الوسائل الأخرى للتحكم بالفعل الهرموني هي تنظيم تفاعل نزع فسفات البروتين. وتكون إنزيمات فسفاتاز البروتين

الفسفوري هي في حد ذاتها معرضة للتنظيم بتفاعلات الفسفتة ونزع الفسفات، وبآليات أخرى متنوعة، كالتآثرات البروتينية ـ البروتينية. وفي الواقع يمكن لوحيدات تنظيمية متميزة أن تحدد نوعية الركيزة لإنزيمات فسفاتاز الفسفو سيرين ـ الفسفوثريونين، حيث يتم تنظيم ارتباطها هرمونياً. الجدير ذكره هنا أن دور تنظيم أيض الجلوكاجون في العضلات هو أفضل أدوار التنظيم بنزع فسفات البروتينات دراسة. حيث وصف نمطان رئيسان من فسفاتاز الفسفو سيرين ـ الفسفوثريونين في هذا النسيج. ويقوم النمط I بشكل تفضيلي بنزع فسفات الوحيدة α لـ كيناز الفسفوريلاز، في حين يقم النمط II بنزع الفسفات من الوحيدة β. وتدخل فسفاتاز النمط I في تنظيم سنتاز الجلوكاجون والفسفوريلاز وكيناز الفسفوريلاز. ويتم تنظيم هذه الفسفاتاز بحد ذاتها بفسفتة وحيدات معينة فيها. وتكون هذه التفاعلات عكسية بفعل أحد إنزيمات الفسفاتاز من النمط II. إضافة إلى ذلك يقوم اثنان من مثبطات البروتين الثابتة بالحرارة بتنظيم فعالية الفسفاتاز من النمط I؛ ويفسفت المثبط –1 وينشط بكيناز بروتيني معتمد على cAMP، أما المثبط –2، الذي قد يكون وحيدة من الفسفاتاز العاطلة، فيفسفت أيضاً، من المحتمل بالكيناز –3 لِسنتاز الجليكوجين، مع أن دور هذه الفسفتة في الأحياء (in vivo) ما يزال غير واضح.

6 – الـ cAMP خارج الخلوي: يغادر بعض الـ cAMP الخلايا، ويمكن كشفه بسهولة في السوائل خارج الخلايا. وينعكس فعل الجلوكاجون في الكبد والڤازوبريسين أو PTH في الكلية بارتفاع مستويات cAMP في البلازما والبول على الترتيب؛ وقد قاد ذلك إلى اختبارات تشخيصية لاستجابة العضو الهدف. ويكون للـ cAMP خارج الخلية فعالية بيولوجية ضئيلة أو معدومة عند الثدييات، لكنه مرسال مهم للغاية بين الخلايا في حقيقيات النوى وطليعيات النوى الدنيا.

هناك هرمون واحد يستخدم الـ cGMP كمرسال ثانوي:

يتشكل GMP الحلقي من الـ GTP بواسطة إنزيمات سيكلاز الجوانيليل، الذي يوجد بأشكال ذوابة مرتبطة بالغشاء. ويكون لكل من هذه النظائر الإنزيمية خصائص حركية وفيزيولوجية وكيميائية ومستضدية مميزة. وقد اعتقد لبعض

الوقت أن cGMP هو النسخة الوظيفية المطابقة للـ cAMP. ويبدو الآن أن لـ cGMP مكانه المميز في آلية العمل الهرموني. وتسبب الببتينات الأذينية (Atriopeptins)، وهي فصيلة من الببتيدات المنتجة في الأنسجة الأذينية القلبية، بيلة الصوديوم وإدراراً بالبول (إبالة) وتوسعاً بالأوعية وتثبيطاً لإفراز الألدوستيرون. وترتبط هذه الببتيدات (كالعامل الأذيني المدر للصوديوم) بالشكل المرتبط بالغشاء لسيكلاز الجوانيليل، وتنشطه. ويؤدي هذا إلى زيادة cGMP بنحو 50 ضعفاً لمقداره في بعض الحالات، والذي يعتقد أنه يتوسط هذه التأثيرات. وتربط دلائل أخرى بين cGMP وتوسع الأوعية. وتؤدي مجموعة من المركبات، منها النتروبروسيد والنتروجليسرين وأكسيد النتريك ونتريت الصوديوم وأزيد الصوديوم إلى استرخاء العضلات الملساء، فهي تعد موسعات وعائية قوية. وتقوم هذه العوامل برفع مستوى cGMP عن طريق تنشيط الشكل الذواب من سيكلاز الجوانيليل، وتعزز مثبطات فسفو دي إستيراز الـ cGMP هذه الاستجابات وتطيلها (كدواء السلدينافيل «الڤياجرا»). وينشط ارتفاع الـ cGMP الكيناز البروتيني المعتمد عليه، الذي يفسفت بدوره عدداً من بروتينات العضلات الملساء ومنها السلسلة الخفيفة للميوزين. وغالباً ما يسهم ذلك في استرخاء العضلات الملساء وتوسع الأوعية.

تعمل عدة هرمونات من خلال الكالسيوم أو الفسفاتيديل إينوزيتولات:

يعد الكالسيوم المؤين منظِّماً مهماً لعدد واسع ومتنوع من العمليات الخلوية، بما في ذلك التقلص العضلي والتقارن تنبيه ـ إفراز وشلال تخثر الدم والفعالية الإنزيمية والاستثارية الغشائية. وهو أيضاً مرسال داخل خلوي للفعل الهرموني.

1 – أيض الكالسيوم: يبلغ تركيز الكالسيوم (Ca^{2+}) داخل الخلية 5 مل جزيء/ل تقريباً، وهو يخضع لمراقبة صارمة للغاية (انظر الفصل 47). ويكون تركيز هذا الأيون الحر داخل الخلية أخفض بكثير 0.1-10 مكروجزيء/ل ويتراوح التركيز المرتبط مع العضيات داخل الخلية كالمتقدرات والشبكة الهيولية الباطنية ضمن المجال 1-20 مكروجزيء/ل. وعلى الرغم من مدروج التركيز هذا المتراوح بين 5000-10000 ضعفاً، والمدروج الكهربائي الموافق العابر للغشاء، فإن أيونات

الكالسيوم تمنع من الدخول للخلية. وهناك ثلاث طرق لتغيير Ca^{2+} في العصارة الخلوية. حيث تعزز بعض الهرمونات (الصنف II.C) النفوذية الغشائية للـ Ca^{2+} وبذلك فهي تزيد تدفق Ca^{2+}. ويتحقق ذلك على الأرجح بآلية تبادل Ca^{2+} - Na^{+} التي تتميز بسعة كبيرة، لكن بألفة منخفضة لـ Ca^{2+}. وهناك أيضاً مضخة معتمدة علىATP آز Ca^{2+} $2H^{+}$– تقوم بقذف الـ Ca^{2+} بالتبادل مع H^{+}. ويكون لهذه المضخة ألفة مرتفعة لـ Ca^{2+}، لكنها بسعة منخفضة، وربما تكون مسؤولة عن التساوي الدقيق للـ Ca^{2+} في العصارة الخلوية. وأخيراً، يمكن للـ Ca^{2+} أن يتحرك (أو يترسب) من (أو إلى) الجميعتين المتقدرية والهيولية الباطنية.

هناك ملاحظتان قادتا إلى الفهم الراهن كيف يعمل الـ Ca^{2+} كمرسال داخل الخلية للفعل الهرموني. الأولى كانت القدرة على تحديد مقدار التبدلات السريعة في تركيز الـ Ca^{2+} داخل الخلية، والتي تكون ضمن دور للـ Ca^{2+} كمرسال داخل الخلية. وقد توفرت الأدلة على ذلك بفضل عدة تقانات منها استخدام Quin2 أو Fura2، ومستخلبات الـ Ca^{2+} المتألقة. ويمكن تقدير التبدلات السريعة للـ Ca^{2+} في المجال الأدنى من المكروجزيء باستعمال هذه المركبات. أما الملاحظة المهمة الثانية فهي تربط بين الـ Ca^{2+} والفعل الهرموني المساهم في تحديد الأهداف داخل الخلوية لفعل الـ Ca^{2+}. وقد وفر اكتشاف منظم لفعالية الفسفودي إستيراز معتمد على الـ Ca^{2+} الأساس لفهم كيف يتآثر الـ Ca^{2+} والـ cAMP في الخلايا.

2– **الكالمودولين**: يطلق اليوم على البروتين المنظم المعتمد على الكالسيوم اسم الكالمودولين (Calmodulin)، وهو بروتين وزنه الجزيئي 17ك. دالتون يماثل البروتين العضلي «التروبونين C» في البنية والوظيفة. ويمتلك الكالمودولين أربع مواضع لارتباط الـ Ca^{2+}، ويؤدي إشغال جميع هذه المواضع إلى تبدل واضح في الهيئة الفراغية بحيث تأخذ معظم الجزيء هيئة البنية الحلزونية ألفا. ومن المحتمل أن يكون هذا التبدل في الهيئة الفراغية مرتبطاً بقدرة الكالمودولين على تنشيط الإنزيمات أو تعطيلها. ويكون تآثر Ca^{2+} مع الكالمودولين (مع حدوث تبدل في فعالية هذا الأخير) مماثلاً لحد بعيد لارتباط الـ cAMP بالكيناز البروتيني، والتنشيط التالي لهذا الجزيء. وغالباً ما يكون الكالمودولين أحد الوحيدات المتعددة في البروتينات المعقدة،

وهو يشـارك بشكل خـاص في تنظيم إنزيمات الكيناز المخـتلفـة وإنزيمات توليـد النوكليوتيد الحلقي وتدركه. ويبين الجدول 44-7 قائمة جزئية بالإنزيمات التي تنظم بشكل مباشر أو غير مباشر بالـ Ca^{2+}، على الأغلب من خلال الكالمودولين.

سيكلاز (محلّقة) الأدينيليل
الكيناز البروتيني المعتمد على الـ Ca^{2+}
$ATPMg^{2+}$ - Ca^{2+} آز
الكيناز البروتيني المعتمد على الـ Ca^{2+} والشحميات الفسفورية
فسفوداي إستيراز النوكليوتيد الحلقي
نازعة هيدروجين الجليسرول 3– فسفات
سنتاز الجليكوجين
سيكلاز الجوانيليل
كيناز الميوزين
كيناز الـ NAD
الفسفوليباز A_2
كيناز الفسفوريلاز
الفسفاتاز 2B للبروتينات الفسفورية
كربوكسيلاز البيروڤات
نازعة هيدروجين البيروڤات
كيناز البيروڤات

الجدول 44-7 : الإنزيمات المنظمة بالكالسيوم أو بالكالمودولين.

بالإضـافة إلى تـأثيرات مـعقـد Ca^{2+}/ الكالمودولين في الإنزيمات ونقل الأيونات، فهو ينظم فعالية العديد من العناصر البنيوية في الخلية وهي تشمل معقد الأكتين ـ ميوزين في العضـلات الملسـاء، الذي يخضـع للتحكم الأدرينالي الفعل β، ومـختلف

العمليات المتواسطة بالخييطات في الخلايا غير القلوصة ومنها تحرك الخلية وتبدلات الهيئة الفراغية والانقسام الفيتلي (التفتل) وتحرر الحبيبات والالتقام.

الكالسيوم هو وسيط آلية العمل الهرموني:

لقد اقترح دور الكالسيوم المؤين في آلية العمل (الفعل) الهرموني استناداً للملاحظات عن أن تأثير العديد من الهرمونات (1) يتناقص في وسط خال من الـ Ca^{2+} أو عند نفاد الـ Ca^{2+} داخل الخلية؛ (2) ويمكن محاكاة هذا التأثير بعوامل تزيد الـ Ca^{2+} في العصارة الخلوية، مثل أيونوفور (حامل أيون) الـ Ca^{2+} A23187 ؛ و (3) يؤثر في تدفق الكالسيوم الخلوي. ولقد درست هذه العمليات ببعض التفصيل في النخامى والعضلات الملساء والصفيحات والغدة اللعابية، لكن معظم ما هو معروف قد يكون عن كيف يقوم كل من الڤازوبريسين والكاتيكولامينات أدرينالية الفعل – α بتنظيم أيض الجليكوجين في الكبد. وقد تم توضيح ذلك بشكل مخططات في الشكلين 20-6 و20-7.

تؤدي إضافة الشادَّات α_1 أو الڤازوبريسين إلى خلايا كبدية معزولة إلى زيادة مقدارها ثلاثة أضعاف في Ca^{2+} العصارة الخلوية (من 0.2 إلى 0.6 مكروجزيء/ل) وذلك خلال ثوان معدودة. ويتَّقدم هذا التبدل ويساوي الازدياد في فعالية الفسفوريلاز a. وتكون تراكيز الهرمونات اللازمة لكلتا هاتين العمليتين متماثلة. ويتثبط هذا التأثير في الـ Ca^{2+} بالضادات α_1، ويؤدي نزع الهرمون إلى انخفاض سريع في كل من Ca^{2+} العصارة الخلوية وفعالية الفسفوريلاز a. ويبدو أن المصدر الأولي للـ Ca^{2+} هو مدخرات العضيات داخل الخلية، التي يبدو أنها تكفي للتأثيرات المبكرة للهرمونات. أما الفعل الذي يدوم لفترة طويلة فيبدو أنه يحتاج تدفقاً أو تثبيطاً معززاً لتدفق الـ Ca^{2+} خلال مضخة الـ Ca^{2+}، ويمكن أن يعتمد هذا الأخير على زيادات متواقتة في الـ cAMP.

ينجم تنشيط الفسفوريلاز عن تحول الفسفوريلاز b إلى الفسفوريلاز a من خلال فعل إنزيمات كيناز الفسفوريلاز b. ويحوي هذه الإنزيمات الكالمودولين على

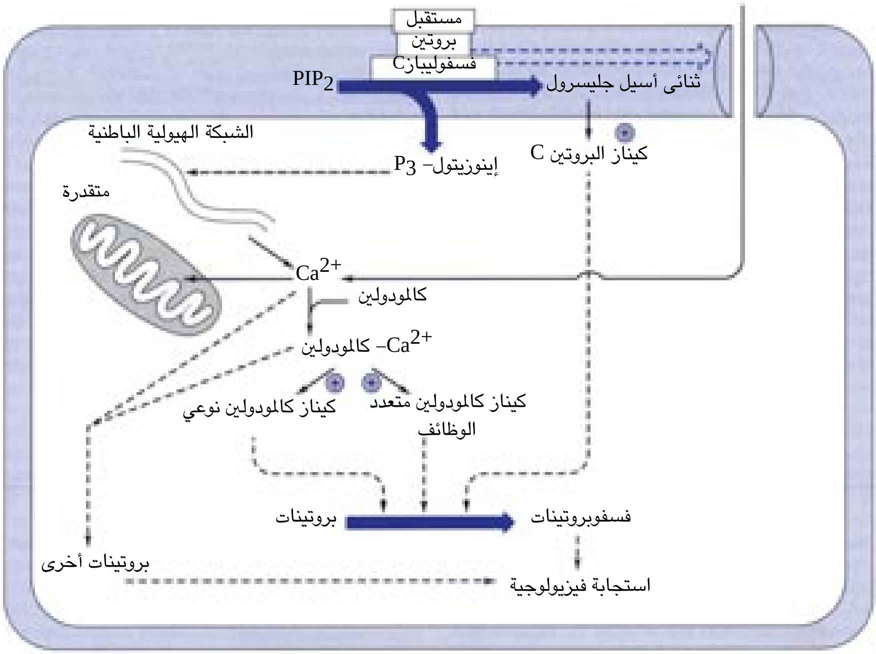
شكل وحـيـدته δ، وتزداد فـعـاليـتـه من خـلال مـجـال تركـيـز الـ Ca^{2+} 0.1-1 مكروجـزيء/ل، وهو المجال الذي تعمل ضـمنه الهرمـونات على رفع الـ Ca^{2+} في الكبد. علماً أن العلاقة بين الـ Ca^{2+} وتنشيط الفسفوريلاز محددة.

ينظم العديد من الإنزيمات الأيضـيـة بالغـة الأهمـيـة بالـ Ca^{2+} أو بالفـسـفـتـة أو بكليهما، ونذكر منها سنتاز الجليكوجين وكيناز البيروفات وكربوكسيلاز البيروفات ونازعة هيدروجين الجليسـيرول 3– فسفات ونازعة هيدروجين البيروفات. وليس من المؤكد فيما إذا كان الكالمودولين مشتركاً بشكل مباشر أو ما إذا كان المسؤول هي إنزيمات الكيناز البروتينية المكتشفة حديثاً المعتمدة إما على Ca^{2+} – الكالمودولين أو على Ca^{2+} – الشحميات الفسفورية.

يؤثر أيض فسفاتيـديل الإينوزيتيد في الفعل الهرمـونـي المعتمد على الـ Ca^{2+}:

يجب على بعض الإشارات أن تؤمن تواصلاً بين المستقبل الهرموني على الغشاء البـلازمي ومـسـتـودعـات الـ Ca^{2+} داخل الخلـيـة. ويتـحـقق ذلك بنواتج أيض الفسـفـاتيـديل إينوزيتول. وتعد المستقبـلات على السطح الخلوي على غـرار تلك الخاصـة بالأسيتيل كولين والهرمون المضـاد للإدرار والكاتيكولامينات من النمط –α1، منشطات قوية للفسفوليباز C، وذلك عندما تشغل بلجائنها الخصوصية. ويقترن كل من ارتباط المستقبل وتنشيط الفسفوليباز C ببروتين G متميز (الشكل 44-9). وتحفز الفسفوليباز C حلمهة فسفاتيديل الإينوزيتول 4، 5– ثنائي الفسفات إلى ثلاثي فسـفـات الإينوزيتـول (IP_3) و1 ، 2– ثنائي أسيل الجليسـيرول (الشكل 44-10). ويكون ثنائي أسـيل الجليسـيـرول بحـد ذاته قـادراً على تنشـيط الكيناز البروتيني C، الذي تعتمد فعاليته أيضاً على الكالسيوم الأيوني الحر. ويعد IP_3، من خلال تآثره مع مستقبلة نوعية داخل الخلية، محرراً فعالاً للكالسيوم من مواضع التخزين داخل الخلية، كالشبكة الهيولية العضلية والمتقدرات. وبذلك، تؤدي حلمهة فـسـفـاتيـديل الإينوزيتـول 4، 5– ثنائي الفـسـفـات إلى تنشـيط الكيناز البروتيني C

وتحريض زيادة أيون الكالسيوم في الهيولى. وكما هو موضح في (الشكل 44-8)، يمكن أن يكون لمعقد البروتين G المنشط فعل مباشر أيضاً في قنوات الـ Ca^{2+}.



الشكل 44-9 : تؤدي تأثرات بعض المستقبلات الهرمونية إلى تنشيط الفسفوليباز C. ويبدو أن هذا يتضمن بروتين G نوعياً، الذي قد ينشط أيضاً قناة للكالسيوم. ويؤدي الفسفوليباز C إلى توليد ثلاثي فسفات الإينوزيتول، التي تحرر الكالسيوم المخزن داخل الخلوي، وثنائي أسيل الجليسرول (ADG)، الذي ينشط كيناز البروتين C. ويقوم الكيناز البروتيني C المنشط في هذا المخطط بفسفتة ركائز معينة، التي تنشط إنزيمات كيناز نوعية. وتؤدي هذه الأفعال إلى فسفتة الركائز، وهذا يقود إلى تبدل الاستجابات الفيزيولوجية.

تكون العوامل المكونة للستيرويدات، التي تضم ACTH والـ cAMP في قشرة الكظر، والأنجيوتنسين II و K^+ والسيروتونين و ACTH والـ cAMP في المنطقة الحبيبية من الكظر و LH في المبيض، و LH و cAMP في خلايا ليديج بالخصيتين

مترافقة مع ازدياد كميات كل من حمض الفسفاتيديك وفسفاتيديل الإينوزيتول ومتعددات الفسفوإينوزيتيد في الأنسجة الهدف الخصوصية. ويمكن العثور على عدة أمثلة أخرى.

يبين (الشكل 44-9) الأدوار التي قد يلعبها الـ Ca^{2+} ونواتج تحطم متعددات الفسفوإينوزيتيد في آلية العمل الهرموني. وفي هذا المخطط، يستطيع الكيناز البروتيني C المنشَّط أن يفسفت ركائز نوعية، والتي تغير بعد ذلك العمليات الفيزيولوجية. وعلى غرار ذلك، يستطيع معقد Ca^{2+} الكالمودولين أن ينشط إنزيمات كيناز نوعية. ثم تعدل هذه الركائز وبذلك تغير الاستجابات الفيزيولوجية.

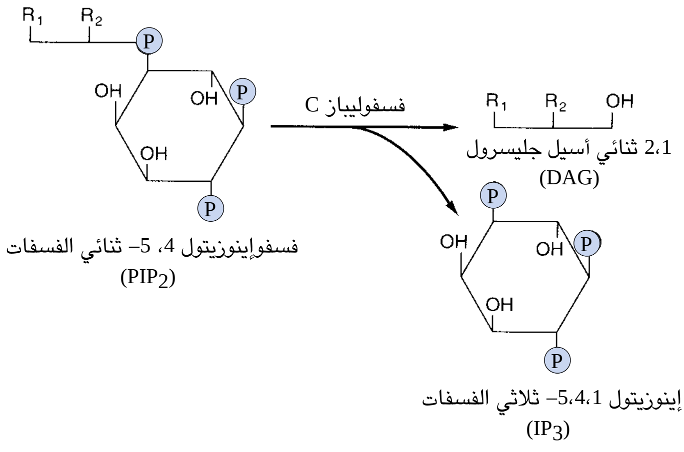
تعمل بعض الهرمونات من خلال شلال الكيناز البروتيني:

تم في الطبعات السابقة من هذا الكتاب، إدراج عدد من الهرمونات ضمن مجموعة الوسيط داخل الخلوي غير المعروف. وقد كان اكتشاف أن مستقبل EGF يتضمن فعالية كيناز التيروزين الداخلي الذي يتنشط بالارتباط مع اللجين، EGF، كان انجازاً مهماً. وتحوي مستقبلات الإنسولين و IGF-I أيضاً فعالية كيناز التيروزين الداخلي المنشط باللجين. ويمكن للعديد من المستقبلات – بشكل عام تلك التي تسهم في ربط اللجائن المشاركة في مراقبة النمو والتمايز والاستجابة الالتهابية – أن يمتلك إما فعالية كيناز التيروزين الداخلي، أو أن تكون مترافقة مع البروتينات التي هي إنزيمات كيناز التيروزين. وهناك مظهر مميز آخر لهذا الصف من الفعل الهرموني هو أن إنزيمات الكيناز هذه تفضل فسفتة ثمالات التيروزين، وتكون فسفتة التيروزين غير شائعة في خلايا الثدييات (<0.03 ٪ من الفسفتة الإجمالية للأحماض الأمينية).

تمتلك بعض المستقبلات الهرمونية، كمستقبلات الإنسولين وEGF و IGF-I، فعالية كيناز التيروزين الداخلي. ويؤدي تنشيط هذا الكيناز إلى فسفتة الركائز البروتينية عند ثمالات التيروزين. ويقود هذا إلى شلال من الأحداث الموصوفة

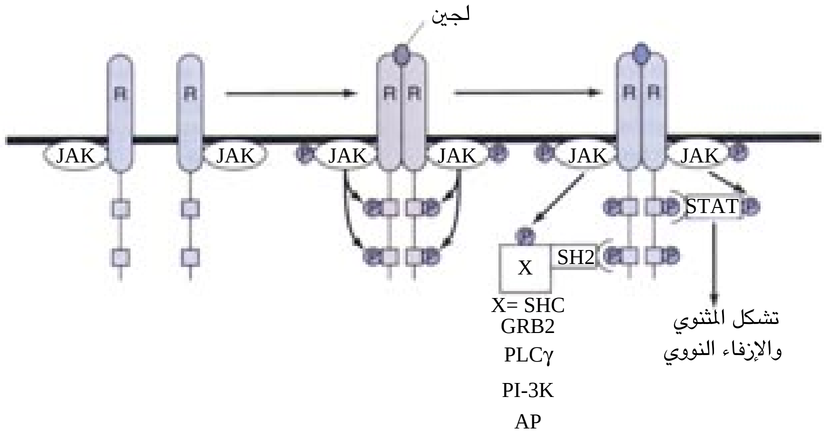
بالتفصيل في (الفصل 51) في مجرى الحديث عن فعل الإنسولين. ويعرض (الشكل 10-51) رسماً تخطيطياً لذلك.

يمكن لتنشيط كيناز التيروزين أن يطلق أيضاً شلال الفسفتة ونزع الفسفات الذي يتضمن فعل العديد من إنزيمات الكيناز البروتيني الأخرى والأفعال المعادلة لإنزيمات الفسفاتاز. وتستخدم آليتان لإطلاق هذا الشلال. فبعض الهرمونات مثل هرمون النمو والبرولاكتين والإريثروبويتين والمحركات الخلوية (السيتوكينات: Cytokines) تطلق فعلها بتنشيط كيناز التيروزين. لكن لا تكون هذه الفعالية جزءاً متمماً للمستقبل الهرموني. وينشط تآثر هرمون ـ مستقبل إنزيمات كيناز التيروزين البروتينية الهيولية مثل Tyk-2 أو JAK1 أو JAK2. وتفسفت إنزيمات الكيناز هذه واحداً، أو أكثر من البروتينات الهيولية التي ترتبط بعد ذلك ببروتينات شاحنة أخرى من خلال الارتباط مع منطقتين Src متماثلتين.



الشكل 10-44 : يشطر الفسفوليباز C الـ PIP_2 إلى ثنائي أسيل جليسرول وثلاثي فسفات الإينوزيتول. ويكون R_1 عموماً السيترات، و R_2 عادة الأراكيدونات. ويمكن أن يكون IP3 منزوع الفسفات (إلى الشكل العاطل $I\text{-}1, 4\text{-}P_2$) أو مفسفتاً (إلى الشكل النشيط تماماً $I\text{-}1,3,4,5\text{-}P_4$).

وتدعى هذه القطع الببتيدية التي يبلغ طولها 100 حمض أميني تقريباً، بمناطق SH2. ويؤدي مثل هذا التآثر إلى تنشيط فصيلة من بروتينات العصارة الخلوية تسمى منبغات الإشارة ومنشطات الانتساخ (STATs). ويتحول البروتين STAT المفسفت إلى مثنوي (ثنائي قسيمة) ويدخل للنواة، ويرتبط بعنصر DNA نوعي، لعنصر الاستجابة للإنترفيرون، أو عنصر الاستجابة المصلية، وينشط الانتساخ. وهذا ما يوضحه (الشكل 44-11). وقد تؤدي أحداث شحن SH2 الأخرى إلى تنشيط الكيناز PI-3، أي سبيل الكيناز MAP (من خلال SHC أو GRB2)، أو تنشيط الفسفوليباز C (PLCχ) بتواسط البروتين G مع إنتاج مرافق لثنائي أسيل الجليسرول وتنشيط الكيناز البروتيني C. ومن الواضح أنه توجد إمكانية للعبور التبادلي عندما تقوم هرمونات مختلفة بتنشيط سبل التنبيغ الإشاري المختلفة هذه.



الشكل 44-11 : ابتداء التنبيغ الإشاري بوساطة مستقبلات مرتبطة بإنزيمات كيناز JAK. وتفتقر المستقبلات التي تربط كل من البرولاكتين وهرمون النمو و الإنترفيرونات والمحركات الخلوية (السيتوكينات)، لكيناز التيروزين داخلي المنشأ. وعند ارتباط اللجين، تصبح هذه المستقبلات مثنوية ويفسفت البروتين المرافق (TYK أو JAK2 أو JAK1). ويقوم JAK-P، وهو كيناز نشيط، بفسفتة المستقبل عند ثمالات التيروزين. وترتبط بروتينات STAT مع المستقبل المفسفت، وتقوم هي بحد ذاتها بعد ذلك بفسفتة JAK-P. ويصبح P.STAT مثنوياً ويجري إزفاؤه إلى النواة، ويرتبط بعناصر الدنا (DNA) النوعية، ويقوم بتنظيم الإنتساخ. وترتبط ثمالات الفسفوتيروزين التابعة للمستقبل بالعديد أيضاً من البروتينات التي تحوي المنطقة SH2. يؤدي هذا إلى تنشيط سبيل الكيناز MAP (من خلال SHC أو GRB2)، وتنشيط الكيناز PLCγ أو PI3.

الخلاصة:

تحتاج الأفعال الخلوية ودوين الخلوية للهرمونات ارتباطَ الهرمون مع مستقبلته النوعية. وتتمتع المستقبلات بالخصائص التالية: هي ذات ألفة عالية للهرمون، ويكون الارتباط عكسياً وسهلاً، وقابلاً للإشباع ونوعياً للغاية. وتكون المستقبلات مسؤولة عن وظيفتين أساسيتين: فهي تربط الهرمون وتقرن ارتباطَ الهرمون بتنبيغ الإشارة.

يمكن أن تكون المستقبلات أحد مكونات الغشاء البلازمي، كما في حالة الهرمونات الببتيدية. أو يمكن أن يكون المستقبل متوضعاً ضمن الخلية، كما في حالة فصيلة المستقبلات الستيرويدية ـ الدرقية ـ الريتينويدية. حيث أنه في هذه الحالة الأخيرة، يكون معقد هرمون ـ مستقبل هو الإشارة داخل الخلية. وبشكل عام يرتبط معقد هرمون ـ مستقبل بمناطق نوعية بالدنا (DNA) تسمى عناصر الاستجابة للهرمون أو HREs.

ويكون كل تأثير هرموني، الذي يتضمن تنظيم انتساخ جينات نوعية متواسطاً بـ HRE نوعي. وفي العديد من الحالات، تكون عدة عناصر من الدنا (DNA) بالإضافة إلى عنصر ارتباط المستقبل ضرورية للاستجابة الهرمونية. وتسمى هذه المجموعة وحدةَ الاستجابة الهرمونية أو HRU. ويؤدي تآثر الهرمونات الببتيدية مع مستقبلاتها إلى عدة تأثيرات مختلفة إضافة لتنظيم تعبير الجينات النوعية. وتتضمن هذه التأثيرات كل من تنظيم فعالية الأيونات والقنوات وفعالية البروتينات داخل الخلية وإفراز الجزيئات المختلفة. ويتوسَّط هذه التأثيرات مراسيل ثانوية (يكون الهرمون هو المرسال الأول) مثل cAMP و cGMP والـ Ca^{2+} ومركبات فسفاتيديل الإينوزيتيد المختلفة وشلاَّلات الكيناز البروتيني.

*** References:**

Arvanitakis L et al: Constitutively signaling G-protein-coubl receptors and human disease. *Trends Endocrinol Metab* 1998;9:27.

Berridge M: Inositol tnphosphate and calcium signalling. *Nature* 1993;361:315.

Chinkers M, Garbers DL: Signal transduction by guanylyl cyclases. *Annu Rev Biochem* 1991;60:553.

Cobb MH, Robbins DJ, Boulton TG: ERKs, Extracellular signal-regulated MAP-2 kineses. *Curr Opin Cell Biol* 1991,3: 1025.

Darnell JE Jr, Kerr IM, Stark GR: Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science* 1994;264: 1415.

Dowell P et al: Ligand-induced peroxisome proliferator-activated receptor α conformational change. *J Biol Chem* 1997;272:33435.

Fantl WJ, Johnson DE, Williams LT: Signalling by receptor tyrosine kinases. *Annu Rev Biochem* 1993;62:453.

Grunstein M: Histone acetylation in chromatin structure and transcription. *Nature* 1997;389:349.

Jaken S: Protein kinase C isozymes and substrates. *Curr Opin Cell Biol* 1996;8: 168.

Karin M: New twists in gene regulation by glucocort ceptor: Is DNA binding dispersible? *Cell* 1998;93:487.

Lucas P, Granner D: Hormone response domains in gene transcription. *Annu Rev Biochem* 1992;61:1131.

Montminy M: Transcriptional regulation by cyclic AMP. *Annu Rev Biochem* 1997;66:807

Neer EJ: Heterotrimeric G proteins: Organizers of transmembrane signals. *Cell* 1995;80:249.

Rasmussen H: The calcium messenger system. (Two parts.) *N Engl J Med* 1986;314:1094, 1164.

Taussig R, Gil man AG: Mammal ion membrane-bound adenylyl cyclases. *J Biol Chem* 1995;270:1.

Torchia J, Glass C, Rosenfeld MG: Co-activators and corepressors in the investigation of transcriptional responses. *Curr Opin Cell Biol* 1998;10:373.

Tsai MJ, O'Malley BW: Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor super-family members. *Annu Rev Biochem* 1994;63:451.

Walton KM. Dixon JE: Protein tyrosine phosphatases. *Annu Rev Biochem* 1993;62:101.

Williamson JR, Monck JR: Hormone effects on cellular Ca^{2+} fluxes. *Annu Rev Physiol* 1989;51:107.

الفصل الخامس والأربعون

هرمونات الغدة النخامية والوطاء

Pituitary and Hypothalamic Hormones

الاختصارات المستعملة في هذا الفصل

ACTH	الهرمون الموجه لقشرة الكظر
ADH	الهرمون المضاد لإدرار (البول)
CG	موجهة الغدد التناسلية المشيمائية
CLIP	ببتيد الفص المتوسط الشبيه بالموجهة القشرية
CRH	الهرمون المطلق للموجهة القشرية
CS	الموجهة الجسدية الثديية المشيمائية؛ محفز الإلبان المشيمائي
FSH	الهرمون المنبه للجريبات
GAP	الببتيد المرافق لـ GnRH
GH	هرمون النمو
GHRH أو GRH	الهرمون المطلق لهرمون النمو
GHRIH	الهرمون المثبط لإطلاق هرمون النمو؛ السوماتوستاتين
GnRH	الهرمون المطلق لموجهة الغدد التناسلية
IGF-I, II	عاملا النمو I و II الشبيهان بالإنسولين
LH	الهرمون الملوتن (هرمون الجسم الأصفر)
LPH	موجهة الشحم (الليبوتروبين)
MSA	الفعالية المنبهة للتضاعف
MSH	الهرمون المنبه للخلية الميلانية
NGF	عامل النمو العصبي
POMC	فصيلة الببتيدات طليعة القشرين الميلاني الأفيوني

الهرمون المثبط لإطلاق البرولاكتين	PRIH أو PIH
البرولاكتين	PRL
الهرمون المثبط لإطلاق الموجهة الجسدية	SRIH
ثلاثي يود التريونين	T_3
الثيروكسين، رباعي يود التريونين	T_4
الهرمون المطلق للموجهة الدرقية	TRH
الهرمون المنبه للدرقية	TSH
عديد الببتيد المعوي الفعال في الأوعية	VIP

مقدمة:

تفرز النخامى الأمامية، تحت مراقبة الهرمونات الوطائية، عدداً من الهرمونات (الهرمونات الاغتذائية: Trophic hormones) التي تنظم نمو الغدد الصم الأخرى ووظيفتها، أو تؤثر في التفاعلات الأيضية في الأنسجة الهدفية الأخرى. وتنتج النخامية الخلفية هرمونات تنظم توازن الماء وثر اللبن من الغدة الثديية المرضعة.

الأهمية الطبية البيولوجية:

يؤدي فقدان وظيفة النخامى الأمامية (قصور النخامى الشامل Panhypopituitarism) إلى ضمور كل من الدرقية وقشرة الكظر والغدد التناسلية. وتقع التأثيرات الثانوية الناجمة عن غياب الهرمونات التي تفرزها هذه الغدد الهدفية على معظم أعضاء الجسم وأنسجته، والعديد من العمليات العامة كأيض البروتينات والشحميات والسكريات والسوائل والكهارل. ويؤدي فقدان وظيفة النخامية الخلفية إلى البوالة التفهة والعجز عن تركيز البول.

تقوم الهرمونات الوطائية بتنظيم النخامى الأمامية:

يخضع تحرير (وفي بعض الحالات إنتاج) كل من الهرمونات النخامية المبينة في (الجدول 45-1) لمراقبة توترية بهرمون وطائي واحد على الأقل. وتتحرر الهرمونات الوطائية من نهايات الألياف العصبية الوطائية حول شعيرات الجملة الوطائية ـ

النخامية في السويقة النخامية، وتصل الفص الأمامي من خلال الجملة البابية الخاصة التي تصل الوطاء مع الفص الأمامي، ويوضح (الجدول 45-2) بنى الهرمونات الوطائية المتعددة.

تتحرر الهرمونات الوطائية بأسلوب نابض، وتستجيب الخلايا الهدفية في النخامى الأمامية المعزولة بشكل أفضل لإعطاء هذه الهرمونات بشكل نابض أكثر من استجابتها للتعرض المستمر. ويتم التحكم بإطلاق LH وFSH عن طريق تركيز هرمون مطلق واحد هو GnRH، الذي ينظِّم بدوره بشكل رئيسي بالمستويات الدورانية من هرمونات الغدد التناسلية التي تصل للوطاء. وتوجد عرى ارتجاعية مشابهة لكل جمل الوطاء ـ النخامى ـ الغدة الهدف، (الجدول 45-1).

يتم التحكم بتحرير ACTH عن طريق الـ CRH بشكل رئيسي، لكن يمكن أن يسهم في ذلك عدد من الهرمونات الأخرى، منها ADH والكاتيولامينات و VIP والأنجيوتنسين II. ويتأثر إطلاق CRH بالكورتيزول وهو هرمون قشراني يفرزه الكظر. ويتأثر تحرير الـ TSH بشكل أساسي بـ TRH، الذي ينظم بدوره بالهرمونات الدرقية T_3 و T_4، لكن يتثبط إطلاق TSH أيضاً بالسوماتوستاتين. ويخضع إطلاق هرمون النمو وإنتاجه لتحكم توتري من قبل الهرمونات الوطائية المنبهة والمثبطة على حد سواء. إضافة إلى ذلك، تسهم عروة ارتجاعية محيطية في تنظيم الـ GH. ويقوم IGF-I (السوماتوميدين C)، الذي يتواسط بعض تأثيرات الـ GH، بتنبيه تحرير السوماتوستاتين (GHRIH)، بينما يثبط إطلاق GHRH. ويخضع تنظيم تخليق البرولاكتين وإفرازه بشكل رئيسي لتثبيط توتري بعوامل وطائية. ويعد هذا أمراً فريداً بسبب الصلة العصبية المشتركة لـ ناقل عصبي ـ هرموني عصبي. ويثبط الدوبامين (الجدول 45-1)، تخليق البرولاكتين (بتثبيط انتساخ جين الـ PRL) وإطلاقه، لكنه غير مسؤول عن التثبيط الإجمالي للـ PRL. وهناك ببتيد عصبي مكون من 56 حمضاً أمينياً يتمتع بفعالية كل من GnRH و PRIH، ومن هنا أتت تسميته بالببتيد المرافق لـ GnRH (GAP). ويعد GAP مثبطاً قوياً لإطلاق الـ PRL وهو قد يكون ببتيد الـ PRIH المراوغ. وقد يفسر GAP الصلة الدقيقة بين إفراز GnRH والبرولاكتين الذي يكون واضحاً بشكل خاص في بعض الأنواع.

هناك العديد من الهرمونات الوطائية، بخاصة TRH و CRH والسوماتوستاتين، في أجزاء أخرى من الجملة العصبية وفي مختلف الأنسجة المحيطية.

على الرغم من أنه كان يعتقد في أول الأمر أن cAMP يتواسط فعل الهرمونات المطلقة على الغدة النخامية، فإن الدراسات على TRH و GnRH قد اقترحت أنه يسهم في ذلك أيضاً آلية كالسيوم ـ فسفاتيديل الإينوزيتول، المشابهة لتلك الموصوفة سابقاً. ومع أنه قد برهن أن الهرمونات المطلقة تؤثر أيضاً في تخليق الهرمون النخامي الموافق، لكن تبين أن الـ GHRH ينبه معدل انتساخ جين الـ GH، كما أن لـ TRH تأثيراً مشابهاً في جين البرولاكتين.

الهرمون الوطائي	الاختصار	الهرمون النخامي المتأثر [2]	هرمون الغدة الهدف المتأثر
الهرمون المطلق للموجهة القشرية	CRH	ACTH (LPH MSH; الإندورفينات)	الهيدروكورتيزون
الهرمون المطلق للموجهة الدرقية	TRH	(PRL) TSH	T_3 ، T_4
الهرمون المطلق لموجهة الغدد التناسلية	GnRH (FSHRH,LHRH)	LH ، FSH	الأندروجينات، الإستروجينات، البروجستينات
الهرمون المطلق لهرمون النمو	GRH أو GHRH	GH	IGF-1 ؛ أخرى (؟)
الهرمون المثبط لإطلاق هرمون النمو؛ السوماتوستاتين؛ الهرمون المثبط لإطلاق الموجهة الجسدية	SRIH أو GHRIH	GH (TSH, FSH, ACTH)	IGF-1، T_3،T_4؛ أخرى (؟)
الهرمونات المثبطة لإطلاق البرولاكتين؛ الدوبامين و GAP	PRIH,PIH	PRL	الهرمونات العصبية (؟)

الجدول 45 -1 : تشكل هرمونات الوطاء ـ النخامية ـ الغدد الهدف عرى متكاملة للارتجاع [1].

(1) – يمكن استنتاج الملامح العامة لكل جملة ارتجاع رئيسة باستبدال الهرمون الوطائي أو النخامي أو هرمون الغدة الهدف الموافق في المكان الملائم من (الشكل 44-1).

(2) – للهرمون الوطائي تأثير ثانوي أو أقل في الهرمونات الموضوعة ضمن قوسين.

تنتج النخامية الأمامية العديد من الهرمونات التي تنبه عمليات فيزيولوجية مختلفة:

لقد نوقشت هرمونات النخامية الأمامية كلاً على حدة بشكل تقليدي، لكن الدراسات المتعلقة بآلية التخليق بوسائط آلية العمل داخل الخلوية (الجدول 44-1) تسمح بتصنيف هذه الهرمونات إلى ثلاث مجموعات:

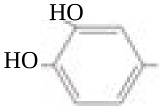
1 – مجموعة هرمون النمو: البرولاكتين ـ الموجهة الجسدية الثديية المشيمائية.

2 – مجموعة الهرمونات البروتينية السكرية.

3 – فصيلة الببتيدات طليعة القشرين الميلاني الأفيوني.

يشكل كل من هرمون النمو والبرولاكتين والموجهة الجسدية الثديية المشيمائية مجموعة هرمونية واحدة:

إن هرمون النمو (GH) والبرولاكتين (PRL) والموجهة الجسدية الثديية المشيمائية (CS؛ محفز الإلبان المشيمائي) هي فصيلة من الهرمونات البروتينية التي فيها تماثل كبير بالتسلسل. ويتراوح حجم GH وCS و PRL من 190 إلى 199 حمضاً أمينياً في الأنواع المختلفة. ويملك كل منها ثمالة تربتوفان واحدة (الموضع 85 في CS و GH؛ والموضع 91 في PRL)، كما يمتلك كل منها رابطتين متماثلتين ثنائية السلفيد. ويبلغ تطابق الأحماض الأمينية بين hGH و hCS 85٪، في حين يبلغ بين hGH و hPRL 35٪. وتتشارك هذه الهرمونات الثلاث بمميزات مستضدية مشتركة، وجميعها يتمتع بفعالية معززة للنمو ومحفزة للإلبان. وتنتج الهرمونات وفق أسلوب نوعي للنسيج حيث ينتج GH و PRL في النخامى الأمامية، و CS في الخلايا الأرومية الغاذية المخلوية (Syncytiotrophoblast) للمشيمية. ويبدو أن كلاً منها يخضع لتنظيم مختلف (الجدول 45-1)؛ وتنشأ هذه الهرمونات القريبة من بعضها بعض بتضاعف جين سلفي، وتتوضع فصيلة جين GH-CS البشري على مجموعة ارتباط في المنطقة 22-24 q من الذراع الطويل للكروموسوم 17. ويوجد جين PRL على الكروموسوم 6.

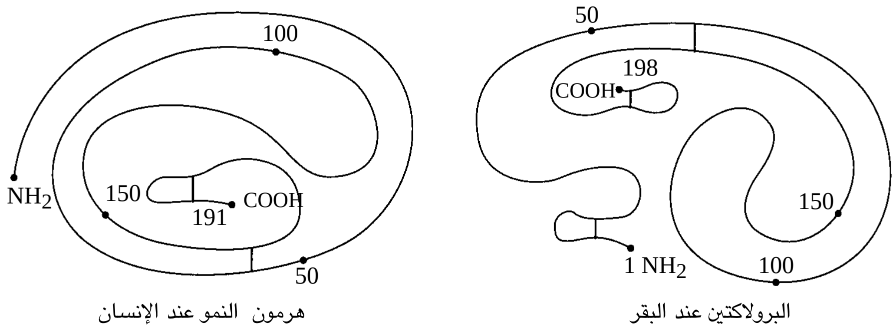
الهرمون	البنية
TRH	(pyro) Glu-His-Pro-NH_2
السوماتوستاتين	S ——————————— S Ala-Cly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys- NH_2
GnRH	(Pyro) Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH_2
PRIH	 $CH_2CH_2NH_2$; (GAP) Gn RH البببتيد المرافق لـ
CRH (في الأغنام)	Ser-Gln-Glu-Pro-Pro-Ile-Ser-Leu-Asp-Leu-Thr-Phe-His-Leu-Leu-Arg-Glu-Val-Leu-Glu-Met-Thr-Iys-Ala-Asp-Gln-Leu-Ala-Gln-Gln-Ala-His-Ser-Asn-Arg-Lys-Leu-Leu-Asp-Ile-Ala-NH2
GHRH (عند الإنسان)	Tyr-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Asn-Ser-Tyr-Arg-Lys-Val-Leu-Gly-Gln-Leu-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-Gln-Asp-Ile-Met-Ser-Arg-Gln-Gln-Gly-Ser-Asn-Gln-Glu-Arg-Gly-Ala-Arg-Ala - Leu -NH_2

الجدول 45 -2 : بنى الهرمونات الوطائية المُطْلِقَة.

هرمون النمو (GH):

أ– التخليق والبنية: يجري تخليق هرمون النمو في الموجهات الجسدية (Somatotropes)، وهي طائفة من الخلايا النخامية المحبة للحمض، والموجهات الجسدية هي الخلايا الأكثر وفرة في الغدة. ويبلغ تركيز GH في النخامى 5-15 مجم/جم، الذي هو أعلى بكثير من الكميات المقدرة بالمكروجرام في الجرام للهرمونات النخامية الأخرى. والـ GH هو متعدد ببتيد مفرد كتلته الجزيئية 22 كيلو دالتون في كل أنواع الثدييات. ويبين (الشكل 45-1) البنية العامة لجزيء هرمون

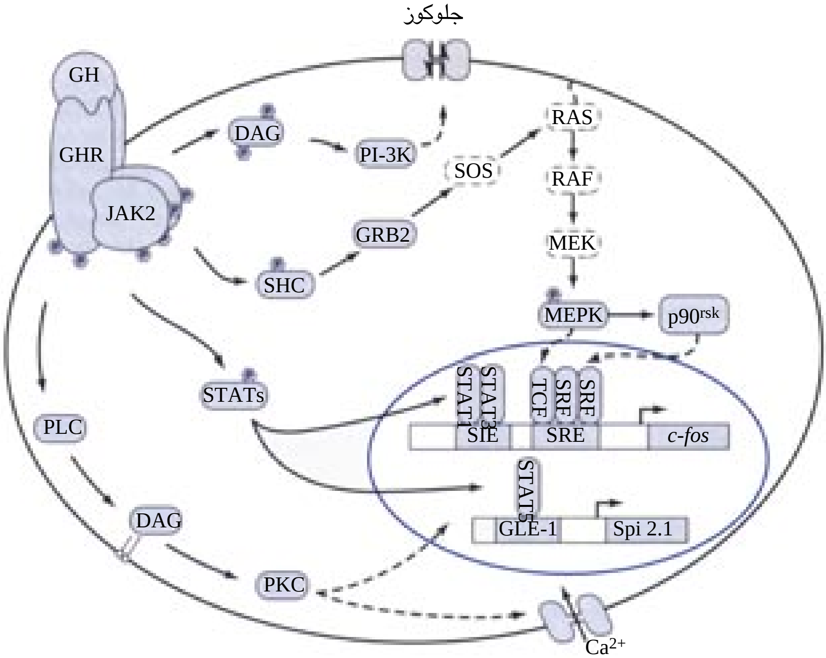
النمو البشري المكون من 191 حمضاً أمينياً. وعلى الرغم من وجود تماثل كبير في تسلسل الأحماض الأمينية بين هرمونات النمو عند مختلف الثدييات، فإن هرمون النمو لدى الإنسان أو لدى الرئيسيات الأرقى الأخرى هو النشيط فقط عند الإنسان. ويصنع الـ GH البشري بتقانات الدنا (DNA) المأشوب، وهو متوافر الآن للاستخدام العلاجي.



الشكل 45-1 : مقارنة بين بنى هرمون النمو عند الإنسان (لليسار) والبرولاكتين عند البقر (لليمين). يوجد في هرمون النمو روابط ثنائية السلفيد بين الثمالات 53-165 و 182-189، وفي البرولاكتين بين الثمالات 4-11، و 58-73 و 190-198(خطوط زرقاء).

ب – مستقبل الـ GH: وهو عضو من فصيلة كبيرة من مستقبلات السيتوكينات (المحركات الخلوية) ـ الأريثروبويتين (مكون الدم). ومستقبل الـ GH هو بروتين ذو كتلة جزيئية تبلغ 70 كيلو دالتون تقريباً، وفيه منطقة واحدة عابرة للغشاء. وتقول المعلومات الحديثة أن ارتباط الـ GH يسبب تشكيل مثنوي من اثنين من مستقبلات الـ GH. ويؤدي هذا إلى تنشيط كيناز التيروزين JAK2 المرافقة لمستقبل الـ GH، وإلى فسفتة المستقبل و jAK2 على ثمالات التيروزيل. وتقود هذه الأحداث إلى تنشيط عدد من سبل الإشارة (الشكل 45-2) التي تتضمن:

(1) فسفتة البروتين STAT وانتساخ الجين، (2) وتنشيط سبيل كيناز الـ MAP المرافق لـ SHC/Grb2، (3) وفسفتة الـ IRS مع تنشيط كيناز PI3، (4) وتنشيط الـ PLC مع إنتاج ثنائي أسيل الجليسرول وتنشيط الكيناز البروتيني C. ويكون سبيل كيناز الـ JAK فريداً في هذا الصف من المستقبلات، لأن السبل الأخرى تنشط بعدد من المستقبلات الهرمونية المختلفة. لذلك توجد إمكانية لتضارب المعلومات والأفكار المتعلقة بالهرمونات على مستوى الاستجابات البيولوجية.



الشكل 45 -2 :سبل تنبيغ الإشارة المنشطة بوساطة تآثر هرمون النمو (GH) مع مستقبلة (GHR). كما هو مشار إليه في النص، قد يتضمن فعل الـ GH وجود أربع سبل مختلفة، جرى توضيح كل منها في هذا الشكل. يؤدي تنشيط JAK2، إلى جانب التنشيط اللاحق لـ STATS 1 و 3، إلى ارتباط عوامل الانتساخ هذه مع جينات معينة، C-*fos* و Spi 2.1 في هذه الحالة. ويمكن استخدام السبل الأخرى من قبل هرمونات مختلفة.

جـ – التأثيرات الفيزيولوجية والكيميائية الحيوية: إن الـ GH ضروري للنمو بعد الولادة وللأيض السوي لكل من السكريات والشحميات والنتروجين والمعادن. ويقوم IGF-I بتواسط التأثيرات المتعلقة بالنمو بشكل رئيسي، وهو عضو من فصيلة الجين الشبيه بالإنسولين. وهو مشابه بنيوياً لطليعة الإنسولين (انظر الفصل 51 والشكل 51-5). ويوجد ببتيد آخر قريب جداً منه في البلازما البشرية هو IGF-II، الذي له فعالية مشابهة أو مطابقة لما يعرف غالباً عند الجرذ بالفعالية المنبهة للتضاعف (MSA). ويرتبط كل من IGF-I و IGF-II بمستقبلات غشائية؛ ويمكن بأية حال تفريقهما بالاعتماد على مقايسات مناعية شعاعية نوعية. ويوجد في IGF-I 70 حمضاً أمينياً، وفي IGF-II يوجد 67 حمضاً أمينياً. وتكون المستويات البلازمية من IGF-II ضعف مستويات IGF-I، ولكن IGF-I هو الذي يتعلق بشكل مباشر بتأثيرات الـ GH. فالأفراد الذين يفتقدون لكمية كافية من الـ IGF-I لكن لديهم IGF-II كاف (الأقزام معوزو الـ GH والأقزام الفيزيولوجيون (Pygmies)؛ انظر الجدول 45-3)، يخفقون في النمو بشكل سوي.

1 – تخليق البروتين: يزيد الـ GH نقل الأحماض الأمينية إلى الخلايا العضلية، ويزيد أيضا تخليق البروتين بآلية مستقلة عن تأثير النقل. وتبدي الحيوانات المعالجة بالـ GH توازناً نتروجينياً إيجابياً، مما يعكس زيادة عامة في تخليق البروتين ونقصاً في مستويات البلازما والبول من الأحماض الأمينية واليوريا. ويترافق ذلك بزيادة تخليق الرنا (RNA) والدنا (DNA) في بعض الأنسجة. وتشابه أفعال هرمون النمو في هذه النواحي بعض أفعال الإنسولين.

2 – أيض السكريات: يعاكس هرمون النمو بشكل عام تأثيرات الإنسولين. ففرط سكر الدم الذي يتلو إعطاء هرمون النمو هو النتيجة المشتركة لنقص الاستعمال المحيطي للجلوكوز ولزيادة الإنتاج الكبدي له عن طريق استحداث السكر. ويزيد الـ GH في الكبد من الجليكوجين الكبدي، على الأرجح من خلال تنشيط استحداث السكر من الأحماض الأمينية. وقد يحدث اضطراب في تحلل السكر عند مراحل متعددة، ويمكن لتحريك الأحماض الدهنية من مخازن ثلاثي أسيل الجليسرول أن

يسـهم أيضـاً في تثبيط تحلل السكر في العضـلات. وقد يؤدي إعطاء GH بشكل مديد إلى السكري.

3 – **أيض الشحميات**: يعزز GH إطلاق الأحماض الدهنية الحرة والجليسرول من النسيج الشحمي، ويزيد الأحماض الدهنية الحرة في الدوارن، ويسبب زيادة أكسدة الأحماض الدهنية الحرة في الكبد. وفي حالات عوز الإنسولين (كالسكري)، يمكن أن يزداد توليد الكيتون. وهذه التأثيرات وتلك المتعلقة بأيض السكريات ليست متواسطة على الأرجح بـ IGF-I.

4 – **أيض المعادن**: يعزز GH، أو الأكثر ترجيحاً IGF-I، توازناً إيجابياً للكالسيوم والمغنيسيوم والفسفات، ويسبب احتباس Na^+ و K^+ و Cl^-. ويتعلق التأثير الأول على الأغلب بفعل الـ GH في العظم، حيث أنه يعزز نمو العظام الطويلة عند الصفائح المشاشية لدى الأطفال في طور النمو والنمو المصاقب (الاندماجي)، أو نمو الأطراف لدى البالغين. ويزيد الـ GH تشكل الغضروف عند الأطفال.

5 – **التأثيرات الشبيهة بالبرولاكتين**: يرتبط الـ GH بمستقبلات محفزة للإلبان، لذلك يتصف بالعديد من خصائص البرولاكتين، كتنبيه الغدد الثدية وتكون اللبن.

د – **الفيزيولوجية المرضية**: إن نقص كميات الـ GH، سواء الناجمة عن قصور النخامية الشامل أو عوز هرمون الـ GH بمفرده تكون أكثر خطورة في الطفولة، لأن الأطفال (بخاصة الرضع) المتأثرين يخفقون في النمو بشكل سوي، وتكون التأثيرات الأيضية الأخرى أقل إزعاجاً. وتساعد الأنماط المختلفة من القزامة في توضيح أهمية المراحل المختلفة في فعل الـ GH (الجدول 45-3). ويستجيب الأقزام معوزو الـ GH بشكل سوي للـ GH خارجي المنشأ. وقد وصف نمطان من مقاومة الأعضاء الهدفية، حيث يكون لدى أقزام نمط لارون (Laron Type Dwarfs) كميات مفرطة من GH-N، لكنهم يفتقدون لمستقبلات GH وظيفية في الكبد. أما الأقزام الفيزيولوجيون (Pygmies)فلديهم على ما يبدو عيب في مستقبل ما بعد GH، وقد يكون هذا محدداً بفعل الـ GH الممارس من خلال IGF-I.

	المستويات البلازمية			الاستجابة للتنبيه بـ GH
	GH	IGF-I	IGF-II	
الأقزام معوزو الـ GH	منخفض	منخفض	منخفض إلى سوي	توجد
الأقزام الفيزيولوجيون	سوي	منخفض	سوي	لا توجد
أقزام نمط لارون	مرتفع	منخفض	منخفض	لا توجد

الجدول 45 -3 : علاقة GH و IGF-I و IGF-II بالقزامة.

يسبب فرط الـ GH، الناجم عن ورم في الخلايا المحبة للحمض، حالة العملقة (Gigantism) وذلك إذا حدث قبل انغلاق الصفائح المشاشية، لأنه يوجد نمو متسارع في العظام الطويلة. وتنجم ضخامة النهايات (Acromegaly) عن الإطلاق المفرط لـ GH الذي يبدأ بعد انغلاق المشاشات، وتوقف نمو العظام الطويلة. ويسبب نمو عظام النهايات (الأطراف) تغيرات مميزة في الوجه (الفك الناتئ والأنف الضخم) وتضخم اليدين والقدمين والجمجمة. وتتضمن الموجودات الأخرى ضخامة الأحشاء وتثخن الجلد ومجموعة من المشكلات الأيضية، منها الداء السكري.

يكون لدى 40 ٪ تقريباً من الأفراد المصابين بضخامة النهايات مرض مرتبط بالبروتين G. ويمتلك مثل هؤلاء الأفراد طفرة واحدة من اثنتين في الوحيدة α_s التي تبطل فعالية الـ GTPase داخلية المنشأ في البروتين (الفصل 44). وتؤثر طفرة واحدة، عند موضع الأرجينين 201، في المقر الذي أدخل إليه ريبوزيل الـ ADP بوساطة ذيفان الكوليرا. ونظراً لأن α_s تكون نشيطة بنيوياً بوجود مثل هذه الطفرة، فإنه يجري إنتاج cAMP بشكل مفرط، وهذا يؤدي إلى فرط بإنتاج GH وإطلاقه، وإلى نمو وتنسخ الخلايا المنمية الجسدية (Somatotroph) بشكل غير محدود. ومن هذا المنطلق يعد α_s جيناً ورمياً.

إن إدراك تنظيم الـ GH يسمح لنا بفهم الاختبارات السريرية المستخدمة في تأكيد هذا التشخيص. فالمرضى معوزو الـ GH يخفقون في زيادة مستويات GH استجابة لنقص سكر الدم المحرض، أو لإعطاء الأرجينين أو الليڤودوبا (Levodopa). ويخفق المرضى الذين لديهم زيادة في GH ناجم عن ورم (العملقة أو ضخامة النهايات) في كبت مستويات الـ GH استجابة لإعطاء الجلوكوز.

البرولاكتين (PRL)؛ الهرمون المحفز للإلبان؛ موجهة الثدي؛ الهرمون الموجه للجسم الأصفر:

أ- التخليق والبنية: البرولاكتين هو هرمون بروتيني ذو كتلة جزيئية تبلغ 23 كيلو دالتون تقريباً، وبنيته العامة بالمقارنة مع بنية الـ GH موضحة في (الشكل 45-1). وهو يفرز من مفرزات البرولاكتين (Lactotrope)، وهي خلايا محبة للحمض في النخامية الأمامية. حيث يزداد عدد هذه الخلايا وحجمها بشكل حاد خلال الحمل. وقد ذكرت سابقاً أوجه التشابه بين بنى ووظائف البرولاكتين و GH و CS.

ب - مستقبلة البرولاكتين: وهي مشابهة في الحجم مع مستقبلة الـ GH. وفيها أيضاً منطقة واحدة عابرة للغشاء، وتنقل الإشارة من خلال سبل مشابهة لتلك الموضحة في (الشكل 45-2).

جـ - الأفعال الفيزيولوجية والكيميائية الحيوية: يسهم البرولاكتين في ابتداء الإلبان (ثر اللبن) والمحافظة عليه عند الثدييات. وتؤثر المستويات الفيزيولوجية فقط في نسيج الثدي المهيأ بالهرمونات الجنسية الأنثوية، لكن يمكن للمستويات المفرطة أن تحرِّض نمو الثدي لدى الإناث المستأصلة مبايضهن أو لدى الذكور. ويكون البرولاكتين لدى القوارض قادراً على المحافظة على الجسم الأصفر، ومن هنا أتى اسم الهرمون الموجه للجسم الأصفر (Luteotropic hormone). ويبدو أن هناك جزيئات قريبة مسؤولة عن تلاؤم سمك المياه المالحة تجاه الماء العذب، وعن انسلاخ الزواحف، وعن إنتاج لبن الكيس الحويصلي في الطيور. وما يزل الوسيط داخل الخلوي لفعل PRL غير معروف.

د – الفيزيولوجية المرضية: تسبب أورام الخلايا المفرزة للبرولاكتين الضهى (Amenorrhea) (انقطاع الحيض أو الطمث) وثر اللبن (Galactorrhea) (إفراغ الحليب) لدى النساء. ويترافق فرط البرولاكتين مع التثدِّي (Gynecomastia) تضخم الثدي) والعنانة (Impotence) عند الرجال.

الموجهة الجسدية الثديية المشيمائية (CS: محفِّز الإلبان المشيمي):

ليس للعضو الأخير من فصيلة GH-PRL-CS وظيفة محددة عند الإنسان، وهو في المقايسات الحيوية يتمتع بفعالية محفزة للإلبان وموجهة للجسم الأصفر وتأثيرات أيضية مشابهة نوعياً لتلك التي لهرمون النمو، منها تثبيط قبط الجلوكوز، وتنبيه تحرير الأحماض الدهنية الحرة والجليسرول، وتعزيز احتباس النتروجين والكالسيوم (على الرغم من ازدياد إفراغ الكالسيوم بالبول)، وإنقاص الإفراغ البولي للفسفور والبوتاسيوم.

الهرمونات البروتينية السكرية هي مجموعة أخرى:

إن معظم الهرمونات البروتينية المعقدة المكتشفة حتى الآن هي البروتينات السكرية النخامية والمشيمائية: الهرمون المنبه للدرقية (TSH)، والهرمون الملوتن (LH)، والهرمون المنبه للجريبات (FSH)، وموجهة الغدد التناسلية المشيمائية (CG). وتؤثر هذه الهرمونات في عمليات بيولوجية مختلفة على الرغم من أنها تتصف بنقاط تشابه بنيوية واضحة. ويوجد هذا الصف من الهرمونات عند كل الثدييات. وتتآثر هذه الجزيئات، على غرار الهرمونات الببتيدية والبروتينية الأخرى، مع مستقبلات على سطح الخلية، وتنشط سيكلاز الأدينيليل، وهي بذلك تستخدم cAMP كمرسال لها داخل الخلية.

يتألف كل من هذه الهرمونات من وحَيْدَتين β و α مرتبطتين بارتباط غير تساهمي. وتكون كل الوحيدات α متماثلة في كل هذه الهرمونات ضمن النوع الواحد، ويوجد أيضاً تماثل واضح بين الأنواع. وتكون الفعالية البيولوجية النوعية

مقتصرة على الوحيدة β التي تكون محفوظة جيداً أيضاً بين الهرمونات لكن وبدرجة أقل من تلك الملاحظة بالنسبة للوحيدة β. ولا تكون الوحيدة β نشيطة بحد ذاتها؛ ويتضمن التعرف على المستقبل حدوث تآثر بين المناطق في كلا الوحيدتين. وتكون الجزيئات الهجينة ما بين الهرمونات وما بين الأنواع نشيطة تماماً؛ مثل = TSH α LH β فعالية الـ LH و = hTSH α mTSH β فعالية الـ TSH عند الفأر، وبذلك فإن الاختلافات الموجودة بين α و β بين الأنواع لا تؤثر في ترابط الوحيدة أو في المنطقة الوظيفية البيولوجية على β. ويتم تخليق كل وُحَيْدَة من mRNAs وحيد من الجينات المنفصلة. ويُعتقد أن كل الهرمونات في هذا الصف قد تطورت من جين سلفي مشترك والذي قاد إلى الجزيئين α و β، وبأنه طرأ على الأخيرة تطور إضافي لتؤمن الهرمونات المستقلة.

يعرف الكثير من التفاصيل عن بنية هذه الجزيئات. فمثلاً: الببتيد الخماسي في النهاية الكربوكسيلية من α ضروري لارتباط المستقبل، لكن ليس من أجل ترابط α / β. وإن الخاصية التي تميز الهرمونات في المجموعة البروتينية السكرية عن الهرمونات في المجموعات الأخرى هي انضمام الجليكوزيل إليها. وتحوي الوحيدة α في كل هرمون بروتيني سكري اثنين من قليلات السكريد المعقدة المرتبطة بالأسبارجين، أما الوحيدة β ففيها إما واحد أو اثنين. ويمكن أن يكون انضمام الجليكوزيل ضرورياً لتآثر β/α. وتملك الوحيدة α خمس جسور S-S، أما الجزء β ففيه ست منها.

توجد الوحيدات α الحرة في النخامية والمشيمة. وهذه المعطيات، إلى جانب تلك الملاحظة بأن α و β يُترجمان من mRNAs مستقلة، تدعم المفهوم الذي يقول بأن تخليق α و β واقع تحت مراقبة مستقلة، وبأن β هي المحددة لإنتاج الهرمون الكامل. ويتم تخليقها جميعها كهرمونات قبل طليعية وتتعرض لمعالجة بعد الترجمة في الخلية لتعطي البروتينات المنضم إليها الجليكوزيل.

أ – موجهات الغدد التناسلية (FSH و LH و hCG): هذه الهرمونات مسؤولة عن تكون الأعراس وتكون الستيرويدات في الغدد التناسلية. وكل منها بروتين سكري ذو كتلة جزيئية تبلغ 25 كيلو دالتون تقريباً.

1 – *الهرمون المنبِّه للجريبات (FSH)*: يرتبط FSH بمستقبلات نوعية على الأغشية البلازمية لخلاياه الهدفية، وهي الخلايا الجريبية (Follicular) في المبيض وخلايا سرتولي (Sertoli) في الخصية. ويؤدي هذا إلى تنشيط سيكلاز الأدينيليل وزيادة إنتاج cAMP. وقد وصفت أفعال FSH بمزيد من التفصيل في (الفصل 50).

2 – *الهرمون المُلَوْتِن (Luteinizing.H.) (LH)* : يرتبط LH بمستقبلات نوعية على الغشاء البلازمي وينبه إنتاج البروجستيرون في خلايا الجسم الأصفر (Corpus Luteum) والتستوستيرون في خلايا ليديج (Leydig). ويكون cAMP هو الإشارة داخل الخلوية لفعل LH. ويحاكي هذا النوكليوتيد أفعال LH، التي تتضمن تعزيز تحويل الأسيتات إلى السكوالين (طليعة تخليق الكوليسترول) وتعزيز تحويل الكوليسترول إلى البريجنينولون، وهي خطوة ضرورية في تشكيل البروجستيرون والتستوستيرون. وقد وصفت أفعال LH بمزيد من التفصيل في (الفصل 50). ويوجد تقارن قوي بين ارتباط LH وإنتاج cAMP، لكن يجري تكون الستيرويدات عندما يحدث ازدياد طفيف في cAMP. ويؤدي التعرض المديد للـ LH إلى إزالة التحسس، غالباً بسبب التنظيم للأدنى لمستقبلات LH، ويمكن استغلال هذه الظاهرة كوسيلة فعالة في تنظيم النسل.

3 – *موجِّهة الغدد التناسلية المشيمائية البشرية (hCG)*: وهي بروتين سكري يتم تخليقه في خلايا الأرومة الغاذية المخلوية في المشيمة؛ وله بنية مثنوية (ثنائي القسيمة αβ) مميزة لهذا الصف من الهرمونات. ويشابه كثيراً LH. وتزداد hCG في الدم والبول مباشرة بعد الانغراس (تعشيش البيضة)، لذلك فإن كشفَها هو الأساس في العديد من اختبارات الحمل.

د – الهرمون المنبه للدرقية (TSH): TSH بروتين سكري له بنية مثنوية αβ وكتلة جزيئية تبلغ 30 ك. دالتون تقريباً. وعلى غرار باقي هرمونات هذا الصف، يرتبط TSH بمستقبلات على الغشاء البلازمي. وينشط سيكلاز الأدينيليل. وتكون الزيادة اللاحقة في cAMP مسؤولة عن فعل الـ TSH في التخليق الحيوي للهرمونات الدرقية. أما عن علاقة cAMP بالتأثيرات النمائية لـ TSH في الدرقية فما تزال غير مؤكدة تماماً.

يمارس الـ TSH تأثيرات شديدة متعددة في وظيفة الدرقية. وتحدث خلال دقائق، وتتضمن زيادة في كافة أطوار التخليق الحيوي لـ T_3 و T_4 بما في ذلك تركيز اليود والتعضي والتقارن وحلمهة الثيروجلوبلين. ولـ TSH تأثيرات مزمنة عديدة أيضاً في الدرقية. وهي تحتاج لعدة أيام. وتتضمن زيادة في تخليق البروتينات والشحميات الفسفورية والأحماض النووية، وكذلك تأثيرات في حجم الخلايا الدرقية وعددها. وتنجم التأثيرات الأيضية طويلة الأمد لـ TSH عن إنتاج الهرمونات الدرقية وفعلها.

إن المعالجة المعقدة تولد فصيلةَ الببتيد طليعة القشرين الميلاني الأفيوني (POMC):

تتألف فصيلة POMC من ببتيدات تعمل كهرمونات (ACTH و LPH و MSH) وأخرى غيرها قد تعمل كنواقل عصبية أو كمعدلات عصبية (الإندورفينات). ويتم تخليق POMC كجزيء طليعي من 285 حمضاً أمينياً ويعالج بشكل مختلف في مناطق متعددة من النخامى.

أ – توزع ومعالجة نواتج جين POMC ووظائفها: يتم التعبير عن جين POMC في الفصين الأمامي والمتوسط من النخامى. وتقع التسلسلات الأكثر حفظاً بين الأنواع ضمن القطعة الطرفية الأمينية، أي منطقة ACTH، ومنطقة ـ β إندورفين. ويوجد POMC أو النواتج القريبة منه في أنسجة أخرى عديدة عند الفقاريات منها الدماغ والمشيمة والسبيل المعدي المعوي والسبيل التناسلي والرئة واللمفاويات. ويفترض أن يكون هذا ناجماً عن التعبير الجيني في هذه الأنسجة (وليس عن الامتصاص من البلازما). وقد وجدت أيضاً ببتيدات قريبة في العديد من الأنواع اللافقارية.

يعالج بروتين POMC بشكل مختلف في الفص الأمامي عنه في الفص المتوسط. ويكون الفص المتوسط رديمياً (Rudimentary: عضواً متخلفاً) عند الإنسان البالغ، لكنه يكون نشيطاً في أجنة الإنسان والنساء الحوامل خلال الحمل المتأخر، ونشيطاً أيضاً في العديد من الأنواع الحيوانية. وتتشابه معالجة بروتين POMC في

الأنسجة المحيطية (المعى، المشيمة، السبيل التناسلي عند الذكور) مع تلك في الفص المتوسط. وهناك ثلاث مجموعات ببتيدية أساسية: (1) ACTH الذي يمكن أن يسبب إنتاج α- MSH وببتيد الفص المتوسط الشبيه بالموجهة القشرية (CLIP)؛ (2) و β– موجهة الشحم (LPH-β)، التي يمكن أن تعطي LPH-γ و MSH-β و β– إندورفين (وبالتالي α و γ– إندورفينات)؛ و (3) ببتيد كبير بالنهاية الأمينية، والذي يولد γ – MSH. ويعود تنوع هذه النواتج إلى العديد من تجمعات الأحماض الأمينية ثنائية الأساس التي هي مقرات لانشطار كامن للإنزيمات الشبيهة بالتربسين. ويكون كل من الببتيدات المذكورة مسبوقاً بالثمالات Lys-Arg أو Arg-Lys أو Arg-Arg أو Lys-Lys. ويجري شطر القطعة طليعة الهرمون، ثم التعديل بانضمام الجليكوزيل، والأستلة، والفسفتة بعد الترجمة. ويحدث الانشطار التالي، في كل من الفصين الأمامي والمتوسط، بين ACTH و LPH- β، مما ينتج ببتيداً ذا نهاية أمينية مع ACTH وقطعة LPH-β (الشكل 45-3). ويشطر ACTH1-39 لاحقاً من الببتيد ذي النهاية الأمينية، ولا تحدث انشطارات إضافية بشكل أساسي في الفص الأمامي. ويجري في الفص المتوسط شطر ACTH1-39 إلى MSH-α (الثمالات 1-13) و CLIP (18-39)؛ و (42-134) LPH-β الذي يتحول إلى (42-101) LPH-β و β–إندورفين (104-134). ويُشْتَق MSH-β (84-101) من LPH-γ.

هناك تعديلات إضافية واسعة لهذه الببتيدات. حيث يجري انضمام الجليكوزيل للكثير من الببتيدات ذات النهاية الأمينية ولـ ACTH1-39 في النخامى الأمامية. ويوجد MSH-α بشكل غالب في الشكل N– المؤستل والشكل الأميدي بالنهاية الكربوكسيلية؛ ويكون MSH-α منزوع الأسيتيل أقل نشاطاً بكثير. ويُؤَسْتَل β ـ إندورفين بسرعة في الفص المتوسط، ويكون β– إندورفين المؤستل، خلافاً لـ MSH-α، أقل نشاطاً بنحو 1000 مرة من الشكل غير المعدل. لذلك يمكن أن يكون β– إندورفين غير نشيط (عاطلاً) في النخامية. ولا تكون هذه الجزيئات مؤستلة في الوطاء، ويفترض أن تكون نشيطة. ويقطع β– إندورفين أيضاً عند النهاية الطرفية الكربوكسلية لتشكيل α و γ– إندورفين (الشكل 45-3). وهي تشكل الإندورفينات الثلاث الرئيسية في الفص المتوسط عند القوارض، ومن المرجح أن يجري أيضاً

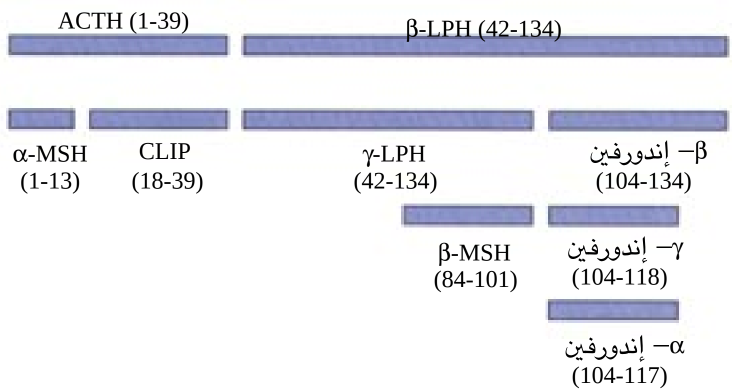
شطر القطعة الكبيرة بالنهاية الأمينية بشكل واسع، لكن على الرغم أن MSH-γ قد وجد في نخاميات الجرذان والبقر، فإن القليل ما هو معروف حول هذه القطعة. وقد أتت هذه المعلومات البنيوية إلى حد كبير من الدراسات المجراة على نخاميات القوارض، ولكن يعتقد أن المخطط العام ينطبق على الأنواع الأخرى. ولم تثبت بعد الوظائف الدقيقة لمعظم ببتيدات POMC.

ب – فعل الببتيدات النوعية وتنظيمها:

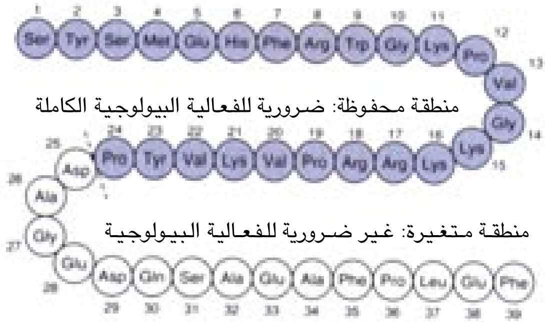
1 – الهرمون الموجه لقشرة الكظر (ACTH): البنية وآلية العمل: يقوم الـ ACTH، وهو متعدِّد ببتيدي أحادي السلسلة مكون من 39 حمضاً أمينياً (الشكل 45-4)، بتنظيم نمو قشرة الكظر ووظيفته. وتكون الأحماض الأمينية الـ 24 الطرفية ضرورية للفعالية البيولوجية الكاملة وهي لا تختلف بين الأنواع، في حين تكون الأحماض الأمينية الـ 15 بالنهاية الكربوكسيلية متغيرة تماماً. ويستخدم مضاهئ $ACTH_{1\text{-}24}$ التركيبي بشكل واسع في الاختبار التشخيصي.

يؤدي ACTH إلى زيادة تخليق الستيرويدات الكظرية وتحريرها بتعزيز تحويل الكوليسترول إلى البريجنينولون. وهذا يتوقف على التحويل من C_{27} إلى C_{21} للسيرويد وذلك بنزع سلسلة جانبية من ست ذرات كربون. ونظراً لأن البريجنينولون هو طليعة كافة الستيرويدات الكظرية (الشكل 48-3)، فإن التنبيه المديد بالـ ACTH يؤدي إلى إنتاج مفرط للقشرانيات السكرية والقشرانيات المعدنية والإيبي أندروستيرون منزوع الهيدروجين (وهو طليعة أندروجينية) إلا أن مساهمة ACTH في الصفين من الأخيرين من السيرويدات تكون في الحدود الدنيا عند الشروط الفيزيولوجية. ويزيد ACTH نمو قشر الكظر (التأثير الإنمائي) بتعزيز تخليق البروتين و RNA.

يرتبط ACTH، على غرار الهرمونات الببتيدية الأخرى، بمستقبله على الغشاء البلازمي. وخلال بضع ثوان من هذا التآثر يزداد مستوى cAMP داخل الخلية بشكل ملحوظ. وتحاكي مضاهئات الـ cAMP فعل الـ ACTH، لكن يسهم الكالسيوم في ذلك أيضاً.



الشكل 45 -3 : نواتج انشطار طليعة القشرين (الكورتين) الميلاني الأفيوني POMC. (MSH: الهرمون المنبه للخلايا الميلانية؛ CLIP: ببتيد الفص المتوسط الشبيه بالموجهة القشرية؛ LPH: الموجهة الشحمية).



الشكل 45 -4 : بنية الـ ACTH عند الإنسان.

2 – *الفيزيولوجية المرضية لـ ACTH:* يؤدي الإنتاج المفرط لـ ACTH في النخامى أو بالإنتـاج المنتبـذ من ورم إلى متـلازمـة كـوشـينج (Cushing's Syndrome). وتؤدي فعالية الـ ACTH الضعفة الشبيهة بالـ MSH أو التحرير المرافق لـ β أو MSH-α إلى فرط التصبغ. وتكون التظاهرات الأيضية ناجمة عن الإنتاج المفرط للستيرويدات الكظرية وتتضمن: (1) التوازن السلبي لكل من النتروجين والبوتاسيوم والفسفور؛ (2) واحـتبـاس الصـوديوم الذي يمكن أن يؤدي إلى فـرط ضـغط الدم أو للوذمـة أو لكليهما؛ (3) ولا تحمل الجلوكوز أو الداء السكري الصريح؛ (4) وزيادة الأحماض الدهنيـة في البـلازمـا؛ (5) ونقص اليـوزينيـات واللمفـاويات في الدوران. مع زيادة الكريات البيضاء مفصصة النوى. وقد يكون لدى مرضى متلازمة كوشينج ضمور عضلي وإعادة توزع غير سوي للدهون، أي سمنة جذعية. ويؤدي فقدان ACTH بسبب الورم أو العدوى أو احتشاء النخامى إلى مجموعة من الموجودات المتعاكسة.

جـ – موجهة الشحم (LPH-β): يتألف هذا الببتيد من الـ 91 حمضاً أمينياً عند النهـاية الكربوكسـيليـة لـ POMC (الشكل 45-3). ويحـوي LPH-β تسلسـلات MSH-β و LPH-γ والميت إنكيفالين و β– إندورفين. وقد تم العثور من هذه على كل من LPH-β و LPH-γ و β– إندورفين في النخـامـيـة البـشـرية، ولم يلاحظ وجـود MSH-β، ويوجد LPH-β في النخامى فقط، لأنه يتحول بسرعة إلى LPH-γو β– إندورفين في الأنسجة الأخرى. ويحوي LPH-β تسلسلاً من سبع أحماض أمينية (β-LPH_{47-53}) مطابقة لـ $ACTH_{4-10}$. ويسـبب LPH-β انحـلال الشـحم وتحـريك الأحماض الدهنية، ولكن يكون دوره الفيزيولوجي في الحدود الدنيا، ومن المرجح أنه يعمل فقط كطليعة للـ ـ β إندورفين.

د – الإندورفينات: يتكون الـ – β إندورفين من الأحماض الأمينية الـ 31 بالنهاية الكربوكسيلية لـ LPH-β (الشكل 45-3). ويعد كل من α و γ– إندورفينات تعديلات للـ –β إندورفين الذي تنزع منه الأحماض الأمينية 15 و 14، على الترتيب، من النهاية الطرفية الكربوكسيلية. وتوجد هذه الببتيدات في النخامية، لكنها تؤستل هناك (انظر سابقاً)، وهي عاطلة غالباً. ويجري تعديلها في مواضع أخرى (مثل عصبونات

الجملة العصبية المركزية)، لذلك فهي على الأرجح تعمل كنواقل عصبية أو كمعدلات عصبية. وترتبط الإندورفينات بمستقبلات الجملة العصبية المركزية ذاتها، تماماً مثلما تفعل الأفيونات، وقد تلعب دوراً في المراقبة داخلية المنشأ لإدراك الألم. وتملك قدرات مسكنة للألم (18-30 ضعفاً بالنسبة للأساس المولي) أكثر من المورفين. ويوجد تسلسل الإنكيفالين في الـ POMC، لكنه غير مسبوق بالأحماض الأمينية ثنائية الأساس. ويفترض أنها لم تتعرض للانشطار أو للمعالجة.

هـ – الهرمون المنبه للخلية الميلانية (MSH): ينبه MSH تكون الميلانين في بعض الأنواع لأنه يسبب تبعثر حبيبات الميلانين داخل الخلية، مما يؤدي إلى انغماق لون الجلد. وتكون الجزيئات المختلفة الثلاث لـ MSH؛ α و β و γ موجودة ضمن جزيء POMC، ويفرز اثنان منها، α و β، في بعض الأنواع غير البشرية. أما عند الإنسان فتكون فعالية MSH الدورانية الفعلية موجودة في الجزيئات الأكبر γ أو β–LPH. ويحوي α-MSH تسلسلاً من الأحماض الأمينية المطابقة لـ $ACTH_{1-13}$، لكنه يملك نهاية أمينية مؤستلة. ويوجد α-MSH و CLIP عموماً عند الحيوانات التي تملك فصاً متوسطاً جيد التطور. وتكون هذه الببتيدات غير موجودة لدى الإنسان بعد الولادة.

يوجد عند المرضى الذين لديهم نقص في إنتاج القشرانيات السكرية (داء أديسون Addison’s Disease) فرط تصبغ مترافق بزيادة فعالية MSH البلازمية. وهذا قد يكون ناتجاً عن الـ ACTH، لكن الأكثر ترجيحاً أنه بسبب الإفراز المرافق لـ β – و γ– LPH، بالإضافة لفعالية الـ MSH المرتبطة فيهما.

تحوي النخامى الخلفية هرمونين نشيطين: الڤازوبريسين والأوسيتوسين:

أطلقت التسمية ڤازوبريسين (Vasopressin) أصلاً بسبب قدرة الهرمون على زيادة ضغط الدم عند إعطائه بكميات دوائية، إلا أن تسميته بالهرمون مضاد الإبالة (الإدرار) (ADH) هي الأكثر ملاءمة، لأن فعله الفيزيولوجي الأكثر أهمية هو تعزيز

عودة امتصاص الماء من النبيبات الكلوية القاصية. وقد سمي الأوكسيتوسين بهذا الاسم (الهرمون المعجل للولادة) أيضاً بسبب التأثير ذي الأهمية الفيزيولوجية المرتاب في صحته، وهو تسريع الولادة بتنبيه تقلص العضلات الملساء في الرحم. أما دوره الفيزيولوجي المرجح فهو تعزيز ثر اللبن من الغدة الثديية.

ينتج كل هرمون في نمط خلوي نوعي في الوطاء، وينقل بوساطة تدفق الهيولى المحورية إلى النهايات العصبية في النخامية الخلفية، حيث، عند التنبيه الملائم تتحرر الهرمونات إلى الدوران. والسبب المرجح لهذا الترتيب هو التملص من الحائل الدموي الدماغي. ويجري تخليق الـ ADH بشكل رئيسي في النواة فوق البصرية، والأوكسيتوسين في النواة جنيب البطينية.

وينقل كل منهما خلال المحاوير (محوار العصبون) بالترافق مع بروتينات حاملة نوعية تدعى النيروفيزينات (Neurophysins: الفيزينات العصبية). ويجري تخليق النيروفيزينين I و II مع الأوسيتوسين و ADH، على الترتيب، كل منهما كجزء من بروتين وحيد (يعرف أحياناً بطليعة البريسوفيزين) من جين واحد. والنيروفيزينان I و II هما بروتينان فريدان بكتل جزيئية قدرها 19 و21 ك. دالتون على الترتيب.

يفرز ADH والأوسيتوسين بشكل منفصل إلى مجرى الدم مع ما يلائم كل منهما من النيروفيزينات. ويجولان في الدوران غير مرتبطين بالبروتينات، ويكون لهما عمر نصفي بلازمي قصير جداً من رتبة 2-4 دقائق. فيما يلي بنية كل من ADH والأوسيتوسين.

Cys - Tyr - Phe - Gln - Asn - Cys - Pro - Arg - Gly - NH_2

ڤازوبريسين الأرجينين

Cys - Tyr - Phe - GLn - Asn - Cys - Pro - Lys- Gly - NH_2

ڤازوبريسين الليسين

Cys - Tyr - Phe - GLn - Asn - Cys - Pro - Arg - Gly - NH_2

الأوكسيتوسين

حيث إن كلاً منها ببتيد عشاري يحوي جزيئات السيستيين في المواضع 1 و 6 مرتبطة بجسر S-S. ويكون لدى معظم الحيوانات ڤازوبريسين الأرجينين، إلا أنه عند الخنازير والأنواع القريبة يستبدل بالليسين في الموضع 8. وبسبب التشابه البنيوي الشديد، فليس من المدهش أن يبدي كل من ADH والأوكسيتوسين بعضاً من تأثيرات الجزيء الأخر. وتتأيض هذه الببتيدات بشكل رئيسي في الكبد على الرغم من أن الإفراغ الكلوي لـ ADH مسؤول عن جزء كبير من فقدانه من الدم.

الأوكسيتوسين (Oxytocin):

أ– تنظيم الإفراز: إن الدفعات العصبية التي تنجم عن تنبيه الحلمات هي المنبه الأولي لإطلاق الأوكسيتوسين. في حين أن التمدد المهبلي والرحمي هي المنبهات الثانوية. ويتحرر البرولاكتين بتأثير العديد من المنبهات التي تطلق الأوكسيتوسين، وقد اقترح بأن قطعة من الأوكسيتوسين تؤثر كعامل مطلق للبرولاكتين. وينبه الإستروجين إنتاج الأوكسيتوسين والنيروفيزين I، أما البروجستيرون فيثبط إنتاج هذه المركبات.

ب – آلية العمل: إن آلية عمل الأوكسيتوسين غير معروفة. وهو يسبب تقلص العضلة الملساء الرحمية لذلك فهو يستخدم بكميات دوائية لتحريض الولادة عند الإنسان. والمثير في الموضوع أن الحيوانات الحوامل التي جرى عندها تخريب السبيل الوطائي النخامي لا تعاني بالضرورة من مشاكل في ولادة صغيرها. وتكون الوظيفة الفيزيولوجية الأكثر ترجيحاً للأوكسيتوسين هي تنبيه تقلص الخلايا الظهارية العضلية التي تحيط بالأسناخ الثديية. وهذا يعزز تحرك الحليب إلى الجملة القنوية السنخية، ويسمح بثر الحليب (اللبن). وتوجد مستقبلات غشائية للأوكسيتوسين في كل من نسيج الرحم والثدي. ويزداد عدد هذه المستقبلات بتأثير الإستروجينات وتنقص بالبروجستيرون. ويمكن للارتفاع المرافق في الإستروجينات وللانخفاض في البروجستيرون، اللذين يحدثان مباشرة قبل المخاض، أن يفسرا على الأرجح بدء الإرضاع (ثر اللبن) قبل الولادة. وتستخدم مشتقات البروجستيرون بشكل شائع لتثبيط الإرضاع بعد الولادة لدى الإنسان. واتضح أن الأوكسيتوسين والنيروفيزين I ينتجان في المبيض، حيث قد يقوم الأوكسيتوسين بتثبيط تكون الستيرويدات.

تضم المجموعات الكيميائية المهمة لفعل الأوكسيتوسين المجموعة الأمينية الأولية للسيستيين بالنهاية الأمينية؛ والمجموعة الفينولية للتيروزين؛ والمجموعات الكربوكسي أميدية الثلاث بالأسباراجين والجلوتامين والجليسيناميد؛ والرابطة ثنائية السلفيد (S-S). وبحذف أو استبدال هذه المجموعات يجري إنتاج العديد من مضاهئات الأوكسيتوسين. فمثلاً يؤدي حذف المجموعة الأمينية الأولية الحرة بثمالة السيستيين النصف نهائية (الموضع 1) إلى إعطاء الأوكسيتوسين المنزوع الأمين، الذي يتمتع بـ 4 إلى 5 أضعاف فعالية الأوكسيتوسين المضادة للإبالة (لإدرار البول).

الهرمون المضاد لإدرار البول (ADH؛ الفازوبريسين):

أ – تنظيم الإفراز: يجري تنشيط الدفعات العصبية التي تحرض إطلاق ADH بعدد من المنبهات المختلفة. حيث يكون ازدياد الأسمولالية في البلازما هو المنبه الفيزيولوجي الأولي. ويكون ذلك متواسطاً بمستقبلات التناضح (Osmoreceptors) المتوضعة في الوطاء ومستقبلات الضغط (Baroreceptors) المتوضعة في القلب ومناطق أخرى من الجملة الوعائية. ويكون لتمديد الدم (أسمولالية ناقصة) تأثير معاكس لذلك. وتتضمن المنبهاتُ الأخرى الكرب الانفعالي والفيزيائي، وعوامل دوائية تتضمن الأسيتيل كولين والنيكوتين والمورفين. حيث تسهم معظمُ هذه التأثيرات في زيادة تخليق ADH والنيروفيزين II، لأن نفاد الهرمون المخزون لا يترافق مع هذا الفعل. ويثِّبط الإبينفرين والعوامل التي تمدد حجم البلازما إفراز الـ ADH، تماماً مثلما يفعل الإيثانول.

ب – آلية العمل: إن أكثر الخلايا التي يستهدفها الـ ADH أهمية فيزيولوجياً عند الثدييات هي تلك في النبيبات الملففة القاصية والبنى الجامعة في الكلية. وتمر هذه القنوات عبر اللب الكلوي، الذي تكون فيه جميعة خارج خلوية ذات مدروج أسمولالي يبلغ أربعة أضعاف ذلك الذي في البلازما. وتكون هذه الخلايا غير نفوذة نسبياً للماء، بحيث أنه في غياب الـ ADH فإن البول يكون غير مركز، وقد يفرز بكميات تتجاوز 2 لتر/ يومياً، وأحياناً حتى 15 لتراً /في اليوم. ويزيد الـ ADH نفوذية

الخلايا للماء، ويسمح بالتوازن التناضحي بين البول في النبيبات الجامعة والنسيج الخلالي مفرط التوتر، مما يؤدي إلى حجم بولي في مجال 0.5-1 لتر/ يومياً.

هناك نمطان من مستقبلات الـ ADH أو الڤازوبريسين: V_1و V_2، حيث توجد المستقبلات V_2 فقط على سطح الخلايا الظهارية الكلوية. ويرتبط هذا المستقبل بسيكلاز الأدينيليل، ويُعتقد أن cAMP يتواسط تأثيرات الـ ADH في النبيب الكلوي. وهذا الفعل الفيزيولوجي هو الأساس في تسمية «الهرمون المضاد لإدرار البول». ويحاكي كل من الـ cAMP ومثبطات فعالية الفسفودي إستيراز (الكافيين مثلاً) أفعال الـ ADH. وفي الأحياء، in vivo يقوم المستوى المرتفع للكالسيوم في الوسط الذي يغمر سطح مخاطية الخلايا النبيبية بتثبيط فعل الـ ADH في حركة الماء، وذلك من خلال تثبيط فعل سيكلاز الأدينيليل، لأنه لا يُنْقِص فعل الـ cAMP بذاته. وقد يكون هذا مسؤولاً، إلى حد ما، عن الحجم المفرط للبول الذي يميِّز المرضى بفرط الكلسمية.

تكون كل مستقبلات ADH خارج الكلوية من النمط V_1. ويسبب ارتباط ADH بالمستقبل V_1 تنشيط الفسفوليباز C، الذي يؤدي إلى توليد IP3 وثنائي أسيل الجليسرول. وهذا يؤدي إلى ازدياد في الـ Ca^{2+} داخل الخلوي وتنشيط الكيناز البروتيني C. وهناك تأثير رئيسي للمستقبلات V_1 هو تضيُّق الأوعية وزيادة المقاومة الوعائية المحيطية. ومن هنا جاء اسم الڤازوبريسين الذي يستخدم أيضاً للدلالة على هذا الهرمون.

جـ – الفيزيولوجية المرضية: تؤدي شذوذات إفراز الـ ADH أو فعله إلى البوالة التفهة (Diabetes insipidus) التي تتميز بإفراغ حجوم كبيرة من البول الممدد. وتكون البوالة التفهة الأولية، أي نقص كمية الهرمون، ناجمة عادة عن تخرب في السبيل الوطائي ـ النخامي بسبب كسر في قاعدة الجمجمة أو ورم أو عدوى لكنها قد تكون وراثية. وفي البوالة التفهة كلوية المنشأ الوراثية، يفرز الـ ADH بشكل سوي لكن تكون الخلية الهدفية غير قادرة على الاستجابة، على الأرجح بسبب عيب في المستقبل؛ ويمكن تمييز هذه الآفة الوراثية عن البوالة التفهة كلوية المنشأ المكتسبة، التي غالباً ما تنجم عن الإعطاء الدوائي لعنصر الليثيوم في علة الهلوسة

الاكتئابية. ويحدث الإفراز غير الملائم للـ ADH بالترافق مع الإنتاج المنتبذ في عدد واسع من الأورام (أورام الرئة عادة)، ولكنه قد يحدث أيضاً بالاقتران مع أمراض الدماغ، أو العداوى الرئوية، أو قصور الدرقية. وهو يدعى بالإفراز غير الملائم، لأنه يتم إنتاج الـ ADH. بمعدل سوي أو مرتفع في وجود نقص الأسمولالية، وبذلك فإنه يسبب نقص الصوديومية التخفيفية المتقدمة والمستمرة مع إفراغ بول مفرط التوتر.

الخلاصة:

تشكل التآثرات النوعية بين الوطاء والنخامية والغدد الصم الهدف سلسلة من الوحدات التنظيمية بالعُرى المغلقة التي هي لب الجملة الصماوية. والغاية من هذا الترتيب هو تأمين مستويات مختلفة من هرمونات الغدد الهدفية استجابة للتحديات الأيضية والبيئية المختلفة ولضمان حدوث دورة توالدية طبيعية. وتكون الهرمونات الوطائية المشتركة في هذا النمط من التنظيم ببتيدات صغيرة عطوبة، وهي تصل إلى النخامية الأمامية من خلال جملة بابية وعائية خاصة. وتنبه هذه الهرمونات تخليق وإطلاق هرمونات النخامية الامامية، التي تصل إلى الغدد الهدفية بالدوران المجموعي وتتضمن الأمثلة على هذه الجمل المقترنة كورتيزول -CRH-ACTH، و TRH-TSH-T3/T4، و GnRH-LH/FSH وتستوستيرون/ إستراديول/ بروجستيرون. وتتضمن الهرمونات المشاركة في هذه الجمل التنظيمية ببتيدات وبروتينات موحودية (أحادية القسيمة) صغيرة وكبيرة، وبروتينات سكرية مثنوية غيرية، وستيرويدات، وهرمونات مشتقة من الأحماض الأمينية. وتكون كل الآليات الكيميائية الحيوية الأساسية لعمل الهرمونات ممثلة في أفعال هذه الهرمونات، مثل تلك التي تضم cAMP، و Ca^{2+}، وثنائي أسيل الجليسرول، و IP3، وشلالات الكيناز، وتآثرات مستقبل ـ لجين المباشرة. إضافة إلى ذلك، يتم تخليق ACTH كجزء من جزيء طليع كبير جداً يعالج بعد ذلك إلى عدد من الهرمونات.

تتشكل وحدات وظيفية مختلفة جداً بين مناطق نوعية بالوطاء والنخامى الخلفية. وتقوم الخلايا في مناطق النوى فوق البصرية وجنيب البطينية بتخليق جزيئات كبيرة تحوي ADH والأوكسيتوسين على الترتيب. وتحوي هذه الجزيئات الطليعة الكبيرة

أيضـــاً النيــروفــيــزينات I و II على التــرتيب، والتي تســـهم في نقل الـ ADH والأوكسيتوسين عبر محاوير العصبونات المنتجة إلى مقرات التخزين في النخامية الخلفية. وتتحرر الهرمونات من هذه المخازن بفعل تبدلات في أسمولالية المصل (ADH) وبتنبيه الحلمة (الأوكسيتوسين: Oxytocin).

***References:**

Amselem S et al: Laron dwarfism and mutations of the growth hormone-receptor gene. *N Engl J Med* 1989; 321:989.

Argetsinger LS et al: Identification of JAK2 as a growth hormone receptor-associated tyrosine kinase. *Cell* 1993; 74:237.

Barbieri RL: Clinical application of GnRH and its analogs. *Trends Endocrinol Metab* 1992;3:30.

Douglass J, Civelli O, Herbert E: Polyprotein gene expression: Generation of diversity of neuroendocrine peptides. *Annu Rev Biochem* 1984;53:665.

Fujiwara TM, Morgan K, Bichet DG: Molecular biology of diabetes insipidus. *Annu Rev Med* 1995;46:331.

Gharib SD et al: Molecular biology of the pituitar gonadotropins (review). *Endocrin Rev* 1990;11:177.

Grossman A: Corticotropin-releasing hormone: Basic physiology and clinical applications. In: *Endocrinology*. *3rd* ed. DeGroot LJ (editor). Saunders, 1995.

Kelly PA et al: The growth hormone/prolactin receptor family. *Rec Prog Horm Res* 1993;48:123.

Lechan RM: Neuroendocrinology of pituitary hormone regulation. *Endocrinol Metab Clin North Am 1987;16:*

الفصل السادس والأربعون

الهرمونات الدرقية

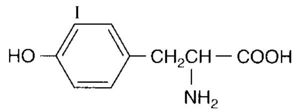
Thyroid Hormones

الاختصارات المستخدمة في هذا الفصل

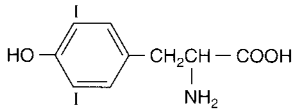
ثنائي يود الثيروزين	DIT
أحادي يود الثيروزين	MIT
ثلاثي يود الثيرونين	T_3
الثيروكسين؛ رباعي يود الثيرونين	T_4
الجلوبلين الرابط للثيروكسين	TBG
قبل الألبومين الرابط للثيروكسين	TBPA
الهرمون المنبه للدرقية	TSH
IgG المنبِّه للدرقية	TSI

مقدمة:

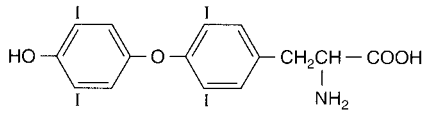
تنظم الهرمونات الدرقية التعبير الجيني والتمايز النسيجي والنمو العام. وتنتج الغدة الدرقية اثنين من هرمونات الأحماض الأمينية اليودية هما 3، 5، ´3 ـ ثلاثي يود الثيرونين (T_3) و 3، 5، ´3، ´5– رباعي يود الثيرونين (T_4، الثيروكسين) واللذين عرفا منذ زمن بعيد بسبب أهميتهما في تنظيم الأيض العام والنمو والتمايز النسيجي. وتنظم هذه الهرمونات، التي يبين (الشكل 46-1) بنيتها، التعبير الجيني باستخدام آليات مشابهة لتلك المستعملة من قبل الهرمونات الستيرويدية. ويمارس T_3 معظم التأثير البيولوجي.



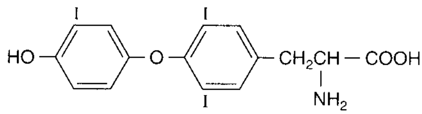
3– أحادي يود التيروزين (MIT)



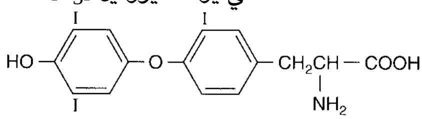
2، 3– ثنائى يود التيروزين (DIT)



3، 5، 3،5– رباعي يود الثيرونين (الثيروكسين [T_4])



3، 5،3– ثلاثي يود التيرونين [T_3]



3، 3، 5´– ثلاثي يود الثيرونين (T_3 العكسي [rT_3])

الشكل 46-1 : بنية الهرمونات الدرقية والمركبات القريبة منها.

الأهمية الطبية البيولوجية:

إن أمراض الدرقية هي من بين الأمراض الأكثر شيوعاً التي تصيب الجملة الصماوية. ويعتمد التشخيص والمعالجة بشكل كبير على الأسس الفيزيولوجية والكيميائية الحيوية للهرمونات الدرقية. وقد ساعد توافر النظائر المشعة لليود في توضيح هذه الأسس بشكل كبير. ويستعمل اليود المشع (الفعال شعاعياً)، بسبب توضُّعه في الغدة، بشكل واسع في تشخيص الاضطرابات الدرقية ومعالجتها.

ولليود المشع وجه خطر كذلك، حيث أنه في حال التعرض المفرط، كحالة الغبار الذري المتساقط، يعد عامل اختطار رئيسياً لسرطان الدرقية. وهذا الأمر حقيقي بخاصة عند الرضَّع والمراهقين، الذين ماتزال خلاياهم الدرقية تنقسم بنشاط.

يتضمن التخليق الحيوي للهرمونات الدرقية أيض الثيروجلوبلين واليود:

تنفرد الهرمونات الدرقية في أنها تحتاج للعنصر الزهيد اليود من أجل فعاليتها البيولوجية. واليود مكون نادر في التربة في معظم أرجاء العالم، لذلك يوجد القليل منه في الطعام. وقد تطورت آلية معقدة للحصول على هذا العنصر المهم واحتباسه لتحويله إلى شكل ملائم لانجباله في المركبات العضوية. وينبغي على الدرقية في الوقت ذاته أن تقوم بتخليق الثيرونين. حيث يجري هذا التخليق في الثيروجلوبلين. وستناقش هذه العمليات بشكل منفصل، على الرغم من أنها تحصل بشكل متزامن.

الثيروجلوبلين بروتين معقد:

أ – التخليق الحيوي: الثيروجلوبلين هو طليعة T_3 و T_4. وهو بروتين كبير ميَودَن، منضم إليه الجليكوزيل، ذو كتلة جزيئية تبلغ 660 كيلو دالتون. وتشكِّل السكريات 8-10 ٪ من وزن الثيروجلوبلين، واليود نحو 0.2-1 ٪، حيث يعتمد ذلك على محتوى الغذاء من اليود. ويتألف الثيروجلوبلين من وحَيدَتين. ويحوي 115 ثمالة ثيروزين، كل منها مقر محتمل لليودنة. يوجد 70 ٪ تقريباً من اليوديد كطلائع غير نشطة فى أحادي يود الثيروزين (MID) وثنائي يود الثيروزين (DIT) في حين يوجد 30٪ في ثمالات يود الثيرونين و T_3 و T_4. وعندما يكون التزويد باليود كافياً، تكون النسبة (T_3: T_4) نحو 7:1. تنخفض هذه النسبة في عوز اليود كما هي حال النسبة DIT:MIT. ويؤمن هذا الجزيء الكبير المؤلف من 5000 حمضاً أمينياً الهيئة الملائمة الضرورية لتقارن الثيروزيل ولتعضي اليوديد الأساسيين في تشكيل الهرمونات الدرقية من الأحماض ثنائية الأمين. يعد الثيروجلوبلين طليعة هرمونية، يجري تخليقه

في الجزء القاعدي من الخلية، ثم يتحرك إلى التجويف، حيث يخزن في الغرواني خارج الخلوي، ويدخل مرة ثانية إلى الخلية، ويتحرك وفق الاتجاه من القمة إلى القاعدة خلال حلمهته إلى الهرمونين النشيطين T_3 و T_4. ويعزز TSH جميع هذه الخطوات، كما يعزز هذا الهرمون (أو cAMP) أيضاً انتساخ جين الثيروجلوبلين.

ب – **الحلمهة:** الثيروجلوبلين شكل اختزاني لكل من T_3 و T_4 في الغرواني: بحيث أنه يوجد في الدرقية السوية إمداد يكفي لعدة أسابيع من هذه الهرمونات. وبعد دقائق قليلة من تنبيه الدرقية بـ TSH (أو cAMP) تحدث زيادة كبيرة ملحوظة في الزغيبات على الغشاء القمي. وتقوم هذه العملية المعتمدة على الأنيبيبات باقتناص الثيروجلوبلين. ثم تعيده عملية الاحتساء التالية إلى الخلية الجريبية. وتندمج هذه الجسيمات البلعمية بالجسيمات الحالّة (اليحلولات) لتشكيل الجسيمات البلعمية الحالّة (أو اليحلولات البلعمية Phagolysosomes)، التي تقوم فيها إنزيمات بروتياز حمضية وببتيداز مختلفة بحلمهة الثيروجلوبلين إلى أحماض أمينية، بما في ذلك يود الثيرونينات. وتفرغ حمولة الـ T_3 و T_4 من الجزء القاعدي للخلية، على الأرجح بعملية مُيَسَّرة (Facilitated) إلى الدم. وتكون النسبة T_3: T_4 في هذا الدم أخفض منها في الثيروجلوبلين، بحيث يجب أن تجري إزالة انتقائية لليود من بعض الـ T4 في الدرقية. ويفرز نحو 50 مكجم من يوديد هرمون الدرقية كل يوم. وبوجود قبط وسطي لليوديد (25-30 ٪ من اليود المتناول)، فإن الحاجة اليومية من اليود هي بين 150 و 200 مكجم.

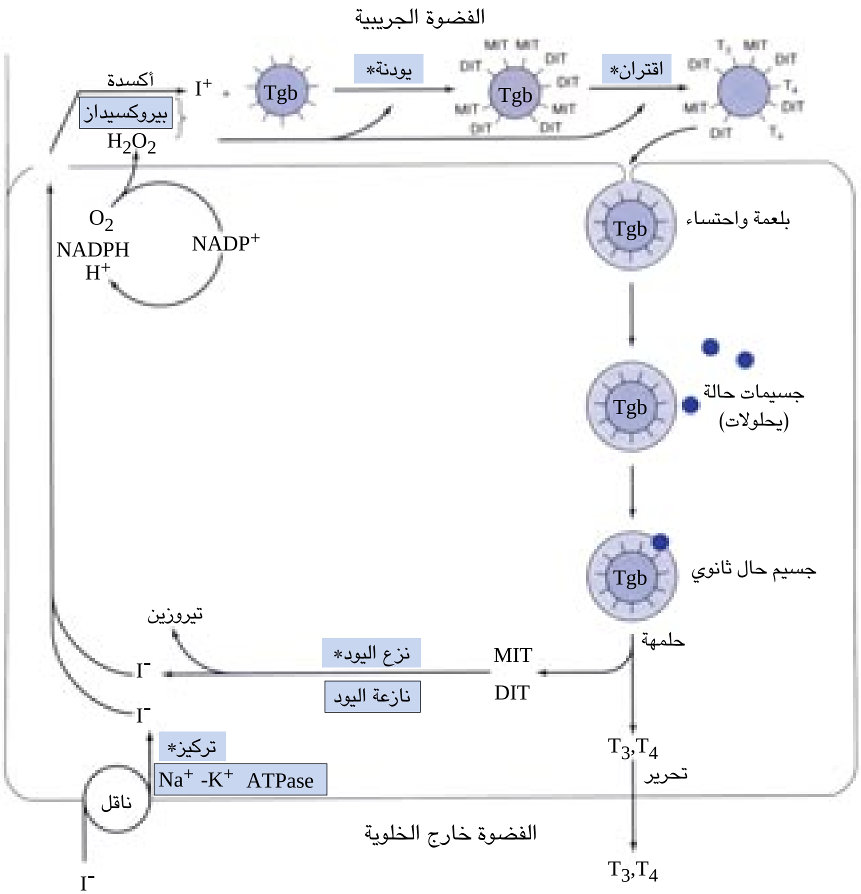
كما نوهنا سابقاً، إن معظم اليوديد في الثيروجلوبلين لا يكون في يود الثيرونين؛ حيث يكون 70 ٪ تقريباً في المركبات غير النشيطة (العاطلة) MIT و DIT. وتتحرر هذه الأحماض الأمينية عندما يتحلمه الثيروجلوبلين، ويلتقط اليوديد بوساطة نازعة اليود (Deiodinase). وتوجد أشكال أخرى من هذا الإنزيم المعتمد على NADPH في النخامى والكلية والكبد. ويشكل اليوديد المنزوع من MIT و DIT جميعة مهمة في الدرقية، حيث أنه يتميز عن ذلك الـ I^- الذي يدخل من الدم. وفي ظروف الحالة المستقرة، وتتكافأ كمية اليوديد الذي يدخل للدرقية مع كمية اليوديد الذي يغادرها. فإذا غادر ثلث يوديد الثيروجلوبلين (بشكل T_4 و T_3)، ينتج عن ذلك أن ثلثي اليوديد المتوافر للتخليق الحيوي يأتي من إزالة يود كل من MIT و DIT في الدرقية.

يتضمن أيض اليوديد عدة خطوات غير مترابطة (الشكل 46-2):

أ – تركيز اليوديد (-I): إن الدرقية، بالإضافة إلى عدة نسج ظهارية أخرى منها الغدة الثديية والمشيمة والغدة اللعابية والمعدة، قادرة على تركيز I^- عكس مدروج كهربائي كيميائي قوي. وهي عمليةٌ معتمدة على الطاقة ومرتبطة بمضخة Na^+-K^+ المعتمدة على ATPase. ويمكن فصل فعالية ناقل I^- الدرقي عن الخطوات اللاحقة في التخليق الحيوي للهرمون عن طريق تثبيط تعضي الـ I^- بأدوية من صنف الثيويوريا (البولات المكبرتة) (الشكل 46-3). وتكون نسبة اليوديد في الدرقية إلى اليوديد في المصل (النسبة S: T) انعكاساً لفعالية هذا الناقل، وتتم مراقبة هذه الفعالية بـ TSH بشكل رئيسي، تتراوح من 500 عند الحيوانات المنبهة بشكل مزمن بـ TSH إلى 5 أو أقل لدى الحيوانات المستأصلة منها النخامية. وتكون النسبة S: T عند الإنسان الموضوع على غذاء سوي اليود نحو 25:1. تدخل كمية صغيرة جداً من اليوديد إلى الدرقية بالانتشار. ويكون أي I^- داخل الخلوي وغير المنجبل في MIT أو DIT (أقل من 10٪ عموماً) حراً بالمغادرة بوساطة هذه الآلية.

يُثَبط ناقل اليوديد بصفين من الجزيئات. حيث تتألف المجموعة الأولى من البركلورات (ClO_4) والبرينات (نسبة لعنصر الرينيوم) (ReO_4^-) والبرتيكنيتات (نسبة لعنصر التكنيشيوم) (TcO_4^-)، وكلها أنيونات ذات حجم نوعي جزئي مشابه لـ I^-. وتتنافس هذه الأنيونات مع I^- على حامله، ويتم تركيزها بوساطة الدرقية. ومن الشائع استخدام النظير المشع لـ TcO_4^- لدراسة نقل اليوديد عند الإنسان. ويعد الأنيون الخطي الثيوسيانات (-SCN) مثالاً عن الصف الثاني، وهو مثبط تنافسي لنقل -I لكنه لا يجري تركيزه بواسطة الدرقية.

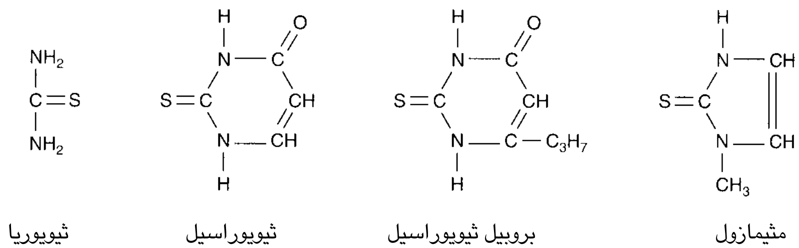
ب – أكسدة I^-: الدرقية هي النسيج الوحيد الذي يستطيع أكسدة الـ I^- إلى حالة تكافؤية أعلى، ولا مناص من هذه الخطوة في تعضي I^- والتخليق الحيوي للهرمون الدرقي، وتتضمن هذه الخطوة إنزيم بيروكسيداز الذي يحوي الهيم، وهي تحدث عند السطح التجويفي للخلية الجريبية.



الشكل 46-2 : نموذج أيض اليوديد في الجريب الدرقي. تظهر الخلية الجريبية في مواجهة تجويف الجريب والفضوة خارج الخلوية (في الأسفل). يدخل اليوديد للدرقية بشكل رئيسي بوساطة ناقل. ويجري تخليق الهرمونات الدرقية في الفضوة الجريبية من خلال سلسلة من التفاعلات، يكون العديد منها متواسطاً بالبيروكسيداز. وتتحرر الهرمونات الدرقية من الثيروجلوبلين عن طريق الحلمهة. (Tgb: الثيروجلوبلين؛ Mit: أحادي يود التيروزين؛ Dit: ثنائي يود التيروزين؛ T_3: ثلاثي يود التيرونين؛ T_4: رباعي يود التيرونين). تشير النجوم إلى الخطوات أو العمليات التي تحدث عندها حالات عوز إنزيمية وراثية والتي تسبب الدراق الولادي، وغالباً ما تؤدي لقصور الدرقية.

إن البيروكسيداز الدرقي بروتين رباعي القسيمات ذو كتلة جزيئية 60 كيلو دالتون، ويحتاج لبيروكسيداز الهيدروجين (H_2O_2) كعامل مؤكسد. ويجري إنتاج H_2O_2 بإنزيم معتمد على NADPH مشابه لمختزلة السيتوكروم c. ويثبط عدد من المركبات أكسدة I^- وبالتالي انجباله اللاحق في MIT و DIT. وأكثر هذه المركبات أهمية سريرياً هي أدوية الثيويوريا، التي يظهر بعضها في (الشكل 46-3). وهي معروفة أيضاً كأدوية مضادة للدرقية بسبب قدرتها على تثبيط التخليق الحيوي للهرمون الدرقي عند هذه الخطوة.

جـ – يودنة (Iodination) التيروزين: يتفاعل اليوديد المؤكسد مع ثمالات التيروزيل في الثيروجلوبلين بتفاعل يشترك فيه على الأغلب البيروكسيداز الدرقي. وتجري يودنة الموضع 3 بالحلقة العطرية (الأروماتية) أولاً ثم بالموضع 5 لتشكيل MIT و DIT على الترتيب. ويحدث هذا التفاعل الذي يدعى أحياناً التعضي (Organification)، خلال ثوان في الثيروجلوبلين التجويفي. وحالما تحدث اليودنة، فإن اليود لا يغادر الدرقية بسهولة وسرعة. ويمكن يودنة التيروزين الحر، لكنه لا ينجبل في البروتينات، لأنه لا يوجد tRNA يتعرف على التيروزين الميودن.



الشكل 46-3 : صف البولات المكبرتة (ثيويوريا) من الأدوية المضادة للدرقية.

د – تقارن يود التيروزيل: يجري تقارن جزيئين من DIT لتشكيل T_4، أو جزيء MIT وجزيء DIT لتشكيل T_3 وذلك في جزيء الثيروجلوبلين الدرقي، مع أن إضافة MIT حر أو DIT حر إلى DIT مرتبط لم تستبعد بشكل حاسم. ولم يعثر على إنزيم تقارني مستقل، ونظراً لأن الذي يجري هو عملية تأكسدية، فقد افترض أن البيروكسيداز الدرقي هو نفسه الذي يُحفِّز هذا التفاعل بتنبيه تشكيل الجذور الحرة من يود الثيروزين. ويدعم هذه الفرضية ملاحظة أن الأدوية ذاتها التي تثبط أكسدة I^- تثبط أيضاً التقارن. وتبقى الهرمونات الدرقية المتشكلة كأجزاء متممة بالثيروجلوبلين إلى أن يتدرك الأخير كما عرض سابقاً. وتتنبه حلمهة الثيروجلوبلين بـ TSH. لكنها تُثَبَّط بـ I^- ؛ حيث يُستغل هذا التأثير الأخير أحياناً باستخدام يوديد البوتاسيوم في معالجة فرط الدرقية.

تنقل الهرمونات الدرقية بالجلوبلين الرابط الدرقي:

يكون نصف إلى ثلثي T_4 و T_3 في الجسم موجوداً خارج الدرقية، ويدور معظم ذلك بشكل مرتبط، أي مرتبط ببروتينين نوعيين رابطين هما الجلوبلين الرابط للثيروكسين (TBG) وقبل الألبومين الرابط للثيروكسين (TBPA) والـ TBG، بروتين سكري بكتلة جزيئية تبلغ 50 كيلو دالتون، وهو الأكثر أهمية كمياً. وهو يربط T_4 و T_3 بمقدار مئة ضعف ألفة الـ TBPA، وله سعة لربط 20 مكجم/دل بالبلازما. ويربط TBG، في الظروف السوية، بشكل لا تكافؤي، كل الـ T_4 و T_3 في البلازما تقريباً (الجدول 46-1). ويكون الجزء الصغير غير المرتبط (الحر) مسؤولاً عن الفعالية البيولوجية. وعلى الرغم من الاختلاف الكبير في الكمية الإجمالية، فإن الجزء الحر من T_3 يقارب ذلك الذي لـ T_4، لكن يكون العمر النصفي لـ T_4 في البلازما أربعة إلى خمسة أضعاف ذلك الذي لـ T_3.

يخضع TBG للتنظيم أيضاً، وهو أمر مهم في الاختبار التشخيصي لوظيفة الدرقية، لأن معظم مقايسات T_4 أو T_3 تقيس الكمية الإجمالية في البلازما بدلاً من الهرمون الحر. وينتج TBG في الكبد، ويزداد تخليقه بالإستروجينات (الحمل وحبوب تنظيم النسل). ويتناقص إنتاج TBG بعد المعالجة بالأندروجينات أو

بالقشرانيات السكرية وفي بعض أمراض الكبد. ويوجد أيضاً ازدياد أو نقص وراثي في TBG. وتؤدي جميع هذه الحالات إلى تغيرات في إجمالي T_4 و T_3 دون تغير في المستوى الحر.

ويتنافس كل من الفينيتوين والساليسيلات مع T_3 و T_4 على الارتباط بـ TBG. وهذا ينقص المستوى الإجمالي للهرمون دون حدوث تغيير في الجزء الحر. ويجب أخذ ذلك في الحسبان عند تفسير الاختبارات التشخيصية.

يقوم تفاعل نزع اليود خارج الدرقية بتحويل T_4 إلى T_3. وبما أن T_3 يرتبط بمستقبل الدرقية في الخلايا الهدفية بـ 10 أضعاف ألفة T_4، فإنه يعتقد أن T_3 هو على الأغلب الشكل النشيط أيضياً للجزيء. ويتحول نحو 80٪ من T_4 الدوراني إلى T_3 أو لـ T_3 المعكوس (rT_3) في النسج المحيطية. وهذا التحويل مسؤول عن معظم إنتاج T_3. والـ T_3 المعكوس ناهضة (شادة) ضعيفة جداً تصنع بمقادير أكبر نسبياً في المرض المزمن وفي مخمصة السكريات وعند الجنين. وينقص كل من البروبيل ثيويوراسيل والبروزانولول تحويل T4 إلى T_3.

تشمل الأشكال الأخرى لأيض الهرمونات الدرقية كلاً من النزع الإجمالي لليود وتعطيل نزع الأمين أو نزع الكربوكسيل. ويؤدي الاقتران بالجلوكورونيد والكبريت في الكبد إلى جزيء أكثر ألفة للماء يتم إفراغه في الصفراء، ويعاد امتصاصه في الأمعاء، وينزع يوده في الكلية، ويفرغ بشكل مقترنات جلوكورونيدية في البول.

الهرمون الإجمالي (مكجم/دل)		الهرمون الحر			العمر النصفي $t_{1/2}$ في الدم (أيام)
		النسبة المئوية من الإجمالي	نانو جرام/ د.ل	المولية	
T_4	8	0.03	2.24 تقريباً	3.0×10^{-11}	6.5
T_4	0.15	0.3	0.4 تقريباً	تقريباً 0.6×10^{-11}	1.5

الجدول 46-1 : مقارنة T_4 و T_3 في البلازما.

تعمل الهرمونات الدرقية عن طريق آلية نووية:

ترتبط الهرمونات الدرقية بمستقبلات نوعية عالية الألفة في نواة الخلية الهدف. ويرتبط T_3 بعشرة أضعاف تقريباً ألفة الـ T_4 ويتمتع بفعالية بيولوجية أكبر نسبياً. وترتبط الهرمونات الدرقية بمقرات منخفضة الألفة في الهيولى. لكن من الواضح أن هذا ليس البروتين ذاته في المستقبلة النووية. وقد يفيد الارتباطُ الهيولى في المحافظة على إبقاء الهرمونات الدرقية «في الجوار».

إن التأثير الرئيسي لـ T_3 و T_4 هو تعزيز التخليق العام للبروتينات، وهو يحدث توازناً نتروجينياً إيجابياً. وتقوم الهرمونات الدرقية، على غرار الستيرويدات، بتحريض أو كظم البروتينات بزيادة أو بإنقاص الانتساخ الجيني (الشكل 44-1). إن عامل الفعل المفروق في حالة T_3 و T_4 هو معقَّد هرمون ـ مستقبلة، الذي يبدو أنه يبقى دائماً في النواة. ويكون عنصر الاستجابة الهرمونية في الدنا (DNA) ذي الفعل المقرون والذي يربط هذا المعقد، من التسلسل اللّبي المبين في (الجدول 44-3) .(AGGTCANNNNAGGTCA)

توجد علاقة دقيقة بين صنفي الهرمونات المتعلقة بالنمو، أي الهرمونات الدرقية وهرمون النمو بحد ذاته. حيث يعزز T_3 والقشرانيات السكرية انتساخ جين الـ GH، بحيث يتم إنتاج GH أكثر. وهذا ما يفسر ملاحظة تقليدية مفادها أن نخاميات الحيوانات معوزة الـ T_3 كانت تفتقر للـ GH، قد يكون وهذا مسؤولاً عن بعض التأثيرات الابتنائية العامة لـ T_3. وتثبط التراكيز المرتفعة جداً من T_3 تخليقَ البروتين، وتسبب توازناً نتروجينياً سلبياً.

تعرف الهرمونات الدرقية بأنها معدلات مهمة لعمليات النمو. ويكون هذا أكثر وضوحاً في استحالة البرمائيات. فالهرمونات الدرقية ضرورية لتحويل الشرغوف إلى ضفدع، وهي عملية تتضمن ارتشاف الذيل، وتكاثر البرعم الطرفي، وتحويل الهيموجلوبين الجنيني إلى الناضج، وتنبيه إنزيمات دورة اليوريا (سنتاز الكرباموبل فسفات) بحيث تفرغ اليوريا بدلاً من الأمونيا، إضافة إلى التغيرات البشروية. وتنجم هذه التأثيرات على الأرجح من تنظيم التعبير الجيني النوعي. وتلزم الهرمونات الدرقية أيضاً للنمو السوي عند الإنسان. ويؤدي قصور الدرقية داخل

الرحم أو الوليدي إلى الفَدَامَة (Cretinism)، وهي حالة تتميز بعيوب ولادية متعددة وتخلف عقلي شديد متعذر شفاؤه.

تتعلّق الفيزيولوجية المرضية للعديد من الأمراض الدرقية بـ TSH و T_3 و T_4:

الدراق هو الدرقية المتضخمة:

يطلق على أي تضخم للدرقية تسمية الدُّراق (Goiter). ويمثل الدراق البسيط محاولة لمعاوضة نقص إنتاج الهرمونات الدرقية؛ وبذلك، ففي كافة هذه الحالات، يكون الـ TSH المرتفع هو القاسم المشترك. وتتضمن الأسباب عوز اليود، وفرط اليود، حين تُخفق آلية التنظيم الذاتي؛ ومجموعة متنوعة من العيوب الأيضية الوراثية النادرة التي توضح أهمية الخطوات المتعددة في التخليق الحيوي للهرمونات الدرقية. وتتضمن هذه العيوب: (1) عيباً في نقل I^- ؛ (2) وعيباً في اليودنة؛ (3) وعيباً في التقارن؛ (4) وعوز نازعة اليود؛ (5) وإنتاج بروتينات ميودنة شاذة. وقد تسبب حالات عوز جزئية في هذه الوظائف دراقاً بسيطاً عند البالغين. ويمكن لأي من أسباب الدراق البسيط هذه، حين يكون شديداً، أن يسبب قصور الدرقية. ويُعالَج الدراق البسيط بهرمون الدرقية خارجي المنشأ. ويكون إضافة أو تقييد مدخول اليود ملائماً لأنماط نوعية من الدراق.

يؤدي عدم كفاية T_3 الحر أو T_4 إلى قصور الدرقية:

ينجم هذا عادة عن قصور الدرقية، لكن يمكن أن ينجم عن داء في النخامى أو الوطاء. ويكون معدل الأيض الأساسي في قصور الدرقية منخفضاً كما هو حال العمليات الأخرى المعتمدة على الهرمونات الدرقية. وتتضمن الملامح البارزة: سرعة القلب البطيئة (بطء سرعة القلب)، وفرط ضغط الدم الانبساطي، والسلوك البطيء، والنعاس والإمساك والحساسية للبرد، وجفاف الجلد والشعر، والسحناء الشاحبة. وتعتمد الملامح الأخرى على العمر حين بدء المرض. حيث يؤدي قصور الدرقية

المتأخر في عهد الطفولة إلى القامة القصيرة لكن من دون التخلف العقلي. وتعالج الأنواع المختلفة من قصور الدرقية بالتعويض بهرمون الدرقية خارجي المنشأ.

ينجم فرط الدرقية، أو الانسمام الدرقي، عن فرط إنتاج الهرمون الدرقي:

هناك العديد من الأسباب، لكن معظم الحالات في الولايات المتحدة الأمريكية تكون ناجمة عن داء جريڤز (Graves’ Disease)، الذي ينجم عن إنتاج IgG المنبّه للدرقية (TSI) الذي ينشط مستقبل TSH. وهذا يسبب تضخماً منتشراً للدرقية وإنتاجاً مفرطاً خارج نطاق التحكم لكل من T_3 و T_4 ، لأن إنتاج TSI يكون غير خاضع للمراقبة بالارتجاع. وتكون الموجودات متعددة الأجهزة وتتضمن سرعة القلب السريعة، والضغط النبضي الواسع، والعصبية، والعجز عن النوم، ونقص الوزن رغم زيادة الشهية، والضعف، والتعرق المفرط، والتحسس للحرارة، والجلد الرطب المتوهج. ويعالج فرط الدرقية بداء غريفز بإحصار إنتاج الهرمون بدواء مضاد للدرقية، أو باجتثاث الغدة باستخدام نظير مشع لليود (مثل I^{131})، أو بمشاركة هاتين الطريقتين. ويمكن إزالة الغدة جراحياً أحياناً.

الخلاصة:

تحتاج الهرمونات الدرقية، ثلاثي يود الثيرونين (T_3) ورباعي يود الثيرونين (T_4)، لعنصر اليود النادر (في شكل اليوديد) لفعاليتها البيولوجية. وقد تطورت سلسلة واسعة من التفاعلات الفيزيولوجية والكيميائية الحيوية لضمان توافر كميات كافية من اليوديد للتخليق الحيوي لكل من T_3 و T_4. وتتضمن هذه العملية، التي تضم الثيروجلوبلين، وهو واحد من أكبر البروتينات المعروفة، مايلي: (1) النقل النشيط لليود إلى الخلية الدرقية؛ (2) وأكسدة اليود إلى حالة تكافؤية أعلى بإنزيم البيروكسيداز؛ (3) ويودنة التيروزين، التي قد تجري بتواسط الإنزيم ذاته؛ (4) وتقارن جزيئين من الثيروزيل الميودَن لتشكيل يود الثيرونينات. وتجري الخطوات

الأخيرة في الثيروجلوبلين، الذي يجب أن يخضع للتحلل البروتيني إلى الأحماض الأمينية المكونة له في الخلية، من أجل تحرير T_3 و T_4. وينبه TSH جميع هذه الخطوات.

تسبب الهرمونات الدرقية تأثيراتها المتعددة بالارتباط بمستقبلات نوعية داخل النواة من طائفة المستقبلات الستيرويدية والدرقية. ويرتبط معقد لجين ـ مستقبل هذا بعناصر الاستجابة للهرمون الدرقي في الجينات الهدفية لتنظيم معدل تخليق الـ mRNAs النوعية. ويؤدي هذا إلى تغير في كمية البروتين النسيب وفعاليته، الذي يبدل بدوره معدل عملية أيضية ما.

*** References:**

Bartalina L: Thyroid hormone-binding proteins: Update 1994. *Endocr Rev* 1994; 13:140.

Dai G, Carrasco L, Carrasco N: Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter. *Nature* 1996;379: 458.

Duprez L et al: TSH receptor mutations and thyroid disease. *Trends Endocrinol Metab* 1998;9: 133.

Hsu J-H, Brent GA: Thyroid hormone receptor gene knockouts. *Trends Endocrinol Metab* 1998;9:103p.

Kimura S et al: Human thyroid peroxidase: Complete cDNA and protein sequence, chromosome mapping and identification of two alternatively spliced mRNAs. *ProcNatl Acad Sci U S A* 1987;84:5555.

Robbins J, Schneider AB: Radioiodine-induced thyn cancer: Studies in the aftermath of the accident at Chernobyl. *Trends Endocrinol Metab* 1998;9:87.

Tsai MJ, O'Malley BW: Molecular mechanisms of actice of steroid/thyroid receptor super-family members. *A Rev Biochem* 1994;63:451.

Vassart G, Dumont JE: The thyrotropin receptor and the regulation of thyrocyte function and growth. *Endocr* I 1992; 13:596.

الفصل السابع والأربعون

الهرمونات المنظِّمة لأيض الكالسيوم

Hormones That Regulate Calcium Metabolism

الاختصارات المستخدمة في هذا الفصل

البروتين الرابط للكالسيوم	CBP
الكالسيتونين	CT
السائل خارج الخلوي	ECF
الڤيتامين D_3	25 OH - D_3
الكالسيتريول	1,25 $(OH)_2D_3$
الهرمون الدريقي	PTH

مقدمة:

تنظم أيونات الكالسيوم عدداً من العمليات الفيزيولوجية والكيميائية الحيوية المهمة. والتي تتضمن الاستثارية العصبية العضلية، وتخثر الدم، والعمليات الإفرازية، وسلامة الغشاء، والنقل عبر الغشاء البلازمي، والتفاعلات الإنزيمية، وتحرير الهرمونات والنواقل العصبية، والفعل داخل الخلوي لعدد من الهرمونات. إضافة إلى ذلك، إن تراكيز كل من Ca^{2+} و PO_4^{3-} المناسبة في السائل خارج الخلوي والسمحاق ضرورية لتمعدن العظم. ولضمان أن هذه العمليات تعمل بشكل سوي، تتم المحافظة على تركيز Ca^{2+} في البلازما ضمن حدود ضيقة جداً. إن هدف هذا الفصل هو تفسير كيفية تحقيق ذلك.

الأهمية الطبية البيولوجية:

يسبب انحراف الكالسيوم المؤيَّن عن المجال السوي العديد من الاضطرابات التي قد تكون مهددة للحياة. وقد يكون لدى 3 ٪ من مرضى المستشفيات اضطراب في استتباب الكالسيوم.

يوجد الكالسيوم في العظم والسائل خارج الخلوي:

يوجد 1 كجم تقريباً من الكالسيوم في جسم الإنسان. ويتوضع 99 ٪ من هذه الكمية في العظم، حيث يشكل مع الفسفات بلورات الهيدروكسي أباتيت التي تشكل المكون اللاعضوي والبنيوي للهيكل. والعظم هو نسيج ديناميكي، ويخضع لإعادة البناء بشكل مستمر كما في التبدل الناجم عن حالات الإجهاد؛ ويوجد في الحالة المستقرة توازن بين تشكيل العظم الجديد وارتشاف العظم. ويكون معظم الكالسيوم في العظم غير قابل للتبادل بحرية مع كالسيوم السائل خارج الخلوي.

لذلك فإن العظم، إضافة إلى دوره الآلي، يفيد كمستودع كبير للكالسيوم. ويكون نحو 1٪ من الـ Ca^{2+} الهيكلي في جَميعَة قابلة للتبادل بسهولة، وهذا الكالسيوم مع 1٪ أخرى من الإجمالي الموجود في الحيز السمحاقي يشكل الجميعة المزوج (القابلة للامتزاج) (Miscible) لـ Ca^{2+}. وتنظِّم الهرمونات المناقشة في هذا الفصل كمية الكالسيوم في السائل خارج الخلوي عن طريق التأثير في نقل الكالسيوم عبر الغشاء الذي يفصل حيز السائل خارج الخلوي عن حيز السائل السمحاقي. ويتنبه هذا النقل بشكل رئيسي بهرمون الدريقات (PTH)، لكن يسهم $1.25\ (OH)_2\text{-}D_3$ في هذا أيضاً.

يوجد كالسيوم البلازما في ثلاثة أشكال: (1) كمعقد مع الأحماض الأمينية، (2) ومرتبط بالبروتين، و (3) مؤَيَّن. ويكون 6٪ تقريباً من الكالسيوم الإجمالي بشكل معقد مع السيترات أو الفسفات أو أنيونات أخرى. ويكون الباقي موزعاً بشكل متساو تقريباً بين شكل مرتبط بالبروتين (مرتبط بشكل رئيسي بالألبومين) وشكل

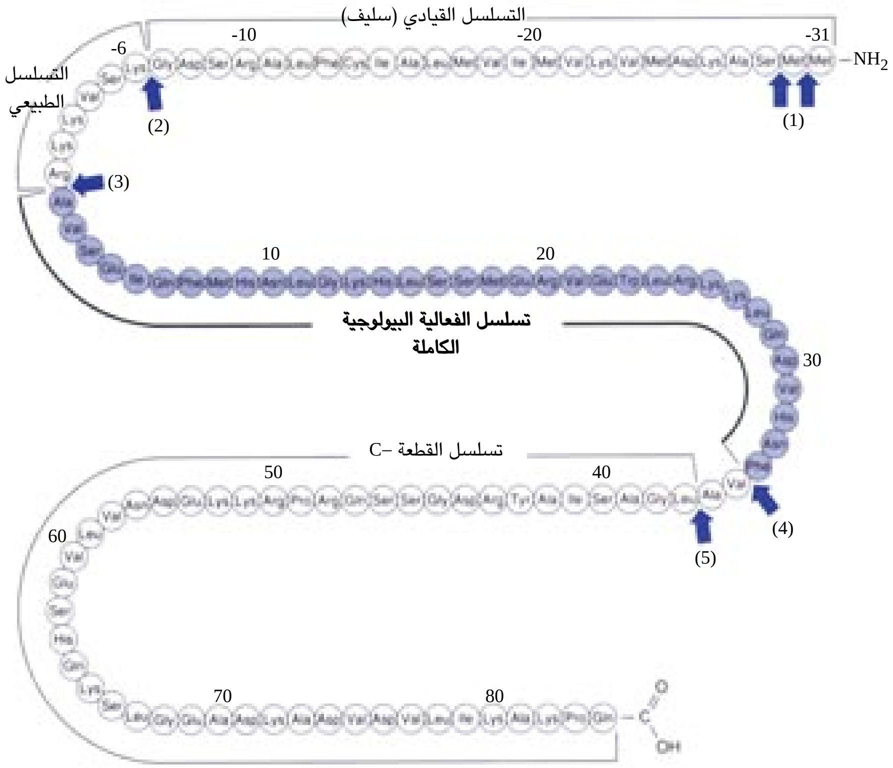
مؤين (غير مرتبط). ويكون الكالسيوم المؤين، الذي تتم المحافظة عليه بتراكيز بين 1.1 و 1.3 ممول/ل عند معظم الثدييات والطيور وسمك المياه العذبة هو الجزء النشيط بيولوجياً. ويكون للعضوية تحمل ضئيل جداً تجاه أي انحراف مهم عن هذا المجال السوي. فإذا هبط مستوى الكالسيوم المؤيَّن، يصبح الحيوان مفرط الاستثارية بشكل متزايد، وقد تظهر اختلاجات تكززية. وقد يؤدي ارتفاع كبير في كالسيوم البلازما إلى الموت بسبب الشلل العضلي والسبات.

يوجد كل من أيون الكالسيوم والأيون المقابل (المعاكس) الفسفات عند أو قرب ناتجها الذواب في البلازما؛ لذلك فإن الارتباط بالبروتين قد يمنع من الترسب والتكلس المنتبذ (Ectopic calcification). ويؤدي تغير تركيز بروتين البلازما (الألبومين بشكل رئيسي، لكن الجلوبلينات تربط الكالسيوم أيضاً) إلى تغيرات موازية في إجمالي كالسيوم البلازما. فمثلاً، يؤدي نقص ألبومين الدم إلى انخفاض إجمالي كالسيوم البلازما بمقدار 0.8 مجم/دل تقريباً لكل نقص بالألبومين مقداره 1جم/دل. ويُلاحَظ عكس ذلك عندما يزداد الألبومين في البلازما. وتكون العلاقة بين الكالسيوم والبروتينات البلازمية معتمدة على الباهاء pH؛ فالحماض يساند (في مصلحة) الشكل المؤين، في حين أن القلاء يعزز الارتباط ويسبب نقصاً مرافقاً في الـ Ca^{2+}. ومن المرجح أن تكون الحالة الأخيرة مسؤولة عن التنمل والنُّخْز المرافقين لمتلازمة فرط التهوية التي تسبب قلاء تنفسياً حاداً.

هناك هرمونان رئيسيان يسهمان في استتباب الكالسيوم:

هرمون الدريقات (PTH) هو ببتيد من 84 حمضاً أمينياً:

لا يحوي هذا الهرمون (الكتلة الجزيئية 9.5 كيلو دالتون) السكريات أو جزيئات أخرى مرتبطة تكافؤياً (الشكل 47-1). وتتمركز الفعالية البيولوجية الكاملة في الثلث الطرفي الأميني من الجزيء؛ أي لـ PTH1-34 كامل الفعالية البيولوجية. وتكون المنطقة 25-34 مسؤولة بشكل رئيسي عن الارتباط بالمستقبل.



الشكل 47-1 : بنية سليف طليعة الهرمون الدريقي عند البقر. تشير الأسهم لموقع الانشطار بوساطة إنزيمات المعالجة في الغدة الدريقية (1-5) وفي الكبد بعد إفراز الهرمون (4-5). تكون المنطقة النشيطة بيولوجياً من الجزيء محمية (مغطاة) بتسلسلات غير ضرورية للفعالية على المستقبلات الهدفية.

يتم تخليق PTH كجزيء طليعي من 115 حمضاً أمينياً (الشكل 47-1). والطليعة المباشرة لـ PTH هو قبل أو سليفة PTH (proPTH)، الذي يختلف عن الهرمون الطبيعي بامتلاكه لامتداد في الطرف الأميني مما يدل أنه ببتيد سداسي أساسي (أي تفاعله أساسي وليس حامضي) بشكل كبير والذي ما تزال وظيفته غامضة. ويكون الناتج الأولي للجين والطليعة المباشرة لـ proPTH هو سلف طليعة الـ PTH

(prepro PTH). ويختلف هذا عن proPTH بوجود امتداد في النهاية الأمينية من 25 حمضاً أمينياً، الذي يكون كارهاً للماء على غرار التسلسلات القيادية أو الإشارية الأخرى المميزة للبروتينات المفرزة. وتبدو البنية الكاملة لـ preproPTH وتسلسلات proPTH و PTH موضحة في (الشكل 47-1).

ويبين (الشكل 47-2) سلسلة الأحداث المساهمة في تحويل preproPTH إلى PTH. وينقل preproPTH إلى الحيز الصهريجي بالشبكة الهيولية الباطنية في الوقت الذي مايزال فيه الجزيء خاضعاً للترجمة من mRNA PTH من قبل الريباسات. ويجري خلال هذا النقل، نزع الببتيد السلف (الببتيد الإشاري أو القيادي) المؤلف من 25 حمضاً أمينياً ليعطي proPTH. ثم ينقل proPTH إلى جهاز جولجي، حيث يقوم إنزيم بنزع امتداد طليعة الهرمون فيعطي جزيء PTH الناضج. ويخضع الـ PTH المتحرر من جهاز جولجي في حويصلات إفرازية إلى ثلاثة مصائر محتملة: (1) النقل إلى جميعة الاختزان؛ (2) أو التدرك؛ أو (3) الإفراز المباشر.

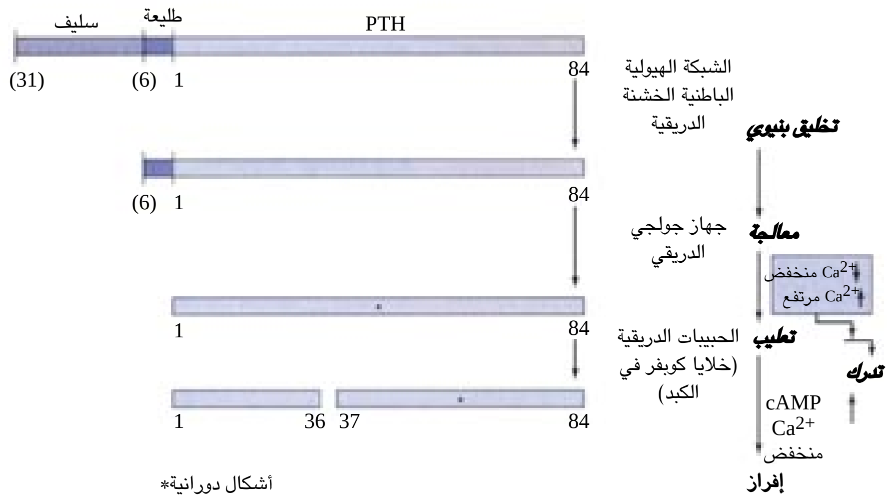
ينظم تخليق الـ PTH وإفرازه وأيضه:

أ – تنظيم التخليق: يُنظم كل من التخليق الحيوي لـ PTH وإفرازه اللاحق بـ Ca^{2+} البلازمي بوساطة عملية معقدة. ويؤدي النقص الحاد في الـ Ca^{2+} إلى زيادة واضحة في PTH mRNA، ويلي ذلك ازدياد في معدل تخليق الـ PTH. وقد وضعت فرضيات عن تأثيرات الـ Ca^{2+} على مستوى انتساخ الجين، وثبات الـ mRNA، وترجمة mRNA. الجدير ذكره هنا أن نحو 80-90٪ من proPTH الذي جرى تخليقه لا يمكن أن يكون مسؤولاً عن الـ PTH السليم في الخلايا أو في وسط الحضانة بالجمل التجريبية. وتقود هذه المعطيات إلى استنتاج مفاده أن معظم proPTH الذي يتم تخليقه يتدرك بسرعة. واكتشف فيما بعد أن هذا المعدل من التدرك يتناقص عندما تكون تراكيز Ca^{2+} منخفضة. ويزداد عندما تكون تراكيز Ca^{2+} مرتفعة. ويلعب $1.25(OH)_2$-D_3 دوراً أساسياً أيضاً في تنظيم فعالية جين الـ PTH. حيث يرتبط معقد $1.25(OH)_2$-D_3 مستقبل بواحد أو أكثر من عناصر الاستجابة النوعية للڤيتامين D (VDREs) في منطقة المِعْزاز من جين الـ PTH ويثبِّط الانتساخ من

الأخير. وبناء عليه يؤدي $1.25(OH)_2\text{-}D_3$ إلى تناقص إنتاج mRNA PTH والبروتين. ويتم تجاوز هذا التأثير في نقص الكلسمية، عندما يكون ازدياد إنتاج الـ PTH ضرورياً لاستتباب الـ Ca^{2+}.

يمكن في النهاية تعزيز تخليق الـ PTH بزيادة حجم الخلايا الرئيسية المنتجة للـ PTH في غدد الدريقات وعددها. ويحدث هذا كنتيجة لنقص الكلسمية المديد أو لعوز $1.25\ (OH)_2\text{-}D_3$.

ب – **تنظيم الأيض**: يبدأ تدرك PTH بعد 20 دقيقة تقريباً من تخليق proPTH، وهو لا يتأثر بشكل أولي بتركيز الـ Ca^{2+}، ويحدث بعد أن يصبح الهرمون في الحويصلات الإفرازية. ويمكن للـ PTH المتشكّل حديثاً أن يفرز مباشرة، أو أن يوضع في حويصلات الاختزان للإفراز اللاحق. ويجري التدرك حالما تبدأ الحويصلة الإفرازية بالدخول إلى حيز الاختزان.



الشكل 47-2 : طلائع الـ PTH ونواتج انشطاره وموضع هذه الخطوات في الغدة الدريقية والكبد. تشير الأرقام ضمن الأقواس لعدد الأحماض الأمينية في القطعة السليفة (13) وفي القطعة الطليعة (6).

تتولد قطع نوعية جداً من الـ PTH خلال هضمه الحال للبروتين (الشكلان 47-1 و47-4)، وتوجد كميات كبيرة من قطع الـ PTH ذات النهاية الكربوكسيلية في الدوران. وتتألف هذه الجزيئات، ذات الكتل الجزيئية 7 كيلو دالتون تقريباً، من PTH37-84 وكميات أقل من PTH34-84. ويتدرك معظم الـ PTH الذي يتم تخليقه حديثاً. ويفرَز نحو جزيئين من القطع ذات النهاية الكربوكسيلية مقابل كل جزيء من الـ PTH السليم؛ لذلك فإن معظم الـ PTH الدوراني يتكون من الجزيئات ذات النهاية الكربوكسيلية. ولم يتم تحديد وظيفة بيولوجية لقطعة الـ PTH ذات النهاية الكربوكسيلية، لكنها قد تطيل العمر النصفي للهرمون في الدوران. وقد تمتحديد عدد من الإنزيمات الحالة للبروتين، بما في ذلك الكاتبسينات B (Cathepsins B) و D – في نسيج الدريقات. حيث يقوم الكاتبسين B بشطر الـ PTH إلى قطعتين: PTH1-36 و PTH37-84.ولا تخضع القطعة PTH37-84 لمزيد من التدرك؛ إلا أن القطعة PTH1-36 تنشطر بسرعة وبشكل تدريجي إلى ثنائيات وثلاثيات ببتيدية. ولم يعثر على proPTH أبداً في الدوران، ويفلت (إن حدث ذلك) القليل من PTH1-34 من الغدة. وقد تم تحديد preproPTH عن طريق حل شيفرة تسلسل الترميز لجين PTH.

يجري معظم التحلل البروتيني للـ PTH في الغدة؛ إلا أن عدداً من الدراسات أثبت أن الـ PTH يتدَّرك بالتحلل البروتيني حال إفرازه في النسج الأخرى. ولم تحدد بعد المساهمة الدقيقة للتحلل البروتيني خارج الغدة، ولم يتضح فيما إذا كانت إنزيمات التحلل البروتيني في الموضعين متشابهة، أو أن نماذج الانشطار ونواتجه تكون متماثلة.

يسهم الكبد والكلى في الأيض المحيطي للـ PTH المفرَز. فبعد استئصال الكبد، لا تلاحظ القطع 34-84 أو 37-84، مما يشير إلى أن الكبد هو العضو الأساسي المساهم في توليد هذه القطع. أما دور الكلى فقد يكون نزع هذه القطع وإفراغها. ويبدو أن المقر الأساسي للتحلل البروتيني المحيطي هو خلايا كوبفر (Kupffer Cells) التي تبطِّن الممرات داخل الجيبانية في الكبد. ويتوضع الببتيداز الداخلي المسؤول عن الانشطار الأولي إلى قطع ذات طرف أميني وكربوكسيلي على سطح هذه الخلايا الشبيهة بالبلاعم، والتي تكون في تماس واضح مع البلازما. ويقوم هذا

الإنزيم، وكذلك الكاتبسين B، بشطر الـ PTH بين الثمالتين 36-37؛ وكما هو الحال في الدريقات، تواصل القطعة الناتجة ذات النهاية الكربوكسيلية طريقها للدوران، في حين تتدرك القطعة ذات النهاية الأمينية بسرعة.

جـ – تنظيم الإفراز: يتعلق إفراز الـ PTH عكساً مع التركيز المحيطي للكالسيوم المؤيَّن. حيث يهبط الـ PTH في المصل بأسلوب مستقيم بالنسبة إلى مستويات كالسيوم المصل الواقعة بين 7.5 و 10.5 مجم/د.ل ويتحقق هذا التحسس بوساطة مستقبل خاصة للـ Ca^{2+} مرتبط بالبروتين G ومتوضع على الخلايا الدريقيَّة. وإن تنشيط البروتين G ينبه الفسفوليباز C_{β}، وهذا يسبب توليد IP_3. حيث يؤدي IP_3 إلى زيادة Ca^{2+} داخل الخلوي ويتلوه إفراز الـ PTH. ويعد وجود الـ PTH النشيط بيولوجياً عندما يكون مستوى كالسيوم المصل هو 10.5 مجم/د.ل أو أكثر مؤشراً على فرط الدريقية (Hyperparathyroidism).

توجد، أيضاً، علاقة خطية بين تحرر الـ PTH ومستوى cAMP داخل الخلية الدريقية. وقد يسهم مستوى الـ Ca^{2+} داخل الخلوي في هذه العملية، لأنه توجد علاقة عكسية بين تراكيز الكالسيوم و cAMP داخل الخلايا. ويمكن للكالسيوم أن يظهر هذا التأثير من خلال فعله المعروف في الفسفوداي أستيراز (عن طريق الكيناز البروتيني المعتمد على Ca^{2+} والكالمودولين)، أو من خلال آلية مماثلة بتثبيط سيكلاز الأدينيليل. وليس للفسفات أي تأثير في إفراز الـ PTH.

تمتلك الغدد الدريقية القليل نسبياً من حبيبات التخزين، وتحوي ما يكفي من الهرمون للحفاظ على الإفراز الأعظمي لمدة ساعة ونصف فقط. وهذا عكس ما يحدث في الجزيرات البنكرياسية، التي تحوي مخازن من الإنسولين تكفي لعدة أيام، وفي الغدة الدرقية، التي تحوي مخازن للهرمون تكفي لعدة أسابيع. لذلك يجب أن يكون تخليق الـ PTH وإفرازه متواصلين.

يعمل الـ PTH عن طريق مستقبل غشائي:

يرتبط الـ PTH ببروتين مستقبل غشائي وحيد، بكتلة جزيئية 70 ك. دالتون

تقريباً. ويبدو أن هذا المستقبل يكون متماثل في العظم والكلية، ولا يوجد في الخلايا غير الهدفية. ويستهل التآثر هرمون ـ مستقبلة إطلاق شلال نموذجي: تنشيط سيكلاز الأدينيليل ⟵ زيادة cAMP داخل الخلية ⟵ زيادة الكالسيوم داخل الخلوي ⟵ فسفتة بروتينات نوعية داخل الخلية بوساطة إنزيمات الكيناز ⟵ تنشيط جينات نوعية وإنزيمات نوعية داخل الخلية والتي تتواسط في النهاية الأفعال البيولوجية للهرمون. وتكون جملة الاستجابة للـ PTH، على غرار العديد من الهرمونات الببتيدية والبروتينية الأخرى، معرضة للتنظيم الأدنى لعدد المستقبلات ولإزالة التحسس (Desensitization)، والذي قد يتضمن آلية تلي الـ cAMP.

يؤثر الـ PTH في استتباب الكالسيوم:

لقد تم تأكيد الدور الأساسي للـ PTH في أيض الكالسيوم من خلال ملاحظة مفادها أن الظهور التطوري الأول لهذا الهرمون كان في الحيوانات التي تسعى للتلاؤم مع وجودها على الأرض. ويقوم الـ PTH، في نقص الكلسمية الحاد، باستعادة التركيز السوي للكالسيوم في السائل خارج الخلوي بالتأثير مباشرة في الكلية والعظم، وبالتأثير بشكل لا مباشر في المخاطية المعوية (من خلال تنبيه تخليق ($1.25(OH)_2$-D_3) ويقوم الـ PTH بـ: (1) تخفيض التصفية الكلوية أو الإفراغ الكلوي للكالسيوم، وبذلك يزداد تركيزه في السائل خارج الخلوي بوساطة هذا الفعل؛ (2) وزيادة معدل انحلال العظم، بما في ذلك كل من الطورين العضوي واللاعضوي، والذي يحرك الـ Ca^{2+} إلى السائل خارج الخلوي؛ (3) وزيادة فعالية امتصاص الكالسيوم من الأمعاء بتعزيز تخليق $1.25(OH)_2$-D_3 (انظر لاحقاً). وتحدث أسرع التغيرات من خلال الفعل في الكلية، لكن يكون التأثير الأكبر آتياً من العظم. وفي عوز الـ Ca^{2+} القوتي المديد، مع عدم كفاية امتصاص الـ Ca^{2+} المعوي، فإن الـ PTH يقي من نقص الكلسمية على حساب المادة العظمية.

يؤثر الـ PTH في استتباب الفسفات:

الفسفات هي الأيون المألوف المضاد (المقابل أو المعاكس) للـ Ca^{2+}، وتتكون بلورة

هيدروكسي الأباتيت في العظم من فسفات الكالسيوم. وتتحرر الفسفات مع الكالسيوم من العظم كلما قام PTH بزيادة انحلال المطرس المعدني. ويزيد الـ PTH التصفية الكلوية للفسفات؛ وبذلك يكون التأثير الصافي للـ PTH في العظم والكلية هو بزيادة تركيز الكالسيوم في السائل خارج الخلوي (ECF)، وبإنقاص تركيز الفسفات فيه أيضاً. ومن المهم أن هذا يمنع ظهور تركيز فائق الإشباع للكالسيوم والفسفات في البلازما.

الفيزيولوجية المرضية:

تؤدي الكميات غير الكافية من الـ PTH إلى قصور الدريقات (Hypoparathyroidism)، وتكون العلامات الكيميائية الحيوية لهذه الحالة هي نقص الكالسيوم المؤين في المصل وارتفاع مستويات الفسفات بالمصل. وتتضمن الأعراض: الهيوجية العصبية العضلية التي تسبب المعوص العضلية والتكزز عندما يكون معتدلاً. أما نقص الكلسمية الحاد الوخيم فإنه يؤدي إلى الشلل التكززي للعضلات التنفسية، ولتشنج الحنجرة والاختلاجات الشديدة والموت. ويؤدي نقص الكلسمية طويل الأمد إلى تغيرات جلدية، وساد، وتكلس العقد القاعدية في الدماغ. ويكون السبب المألوف لقصور الدريقات هو الاستئصال العارض للغدد أو إصابتها بأذية خلال جراحة العنق (قصور الدريقية الثانوي)، لكن، ينجم الاضطراب أحياناً عن تخريب منيع للذات في الغدد (قصور الدريقية الأولي).

في قصور الدريقية الكاذب (Pseudohypoparathyroidism)، وهو اضطراب وراثي، يتم إنتاج PTH نشيط حيوياً، لكن تكون هناك مقاومة لتأثيراته على مستوى الأعضاء النهائية. إلا أن النتائج الكيميائية الحيوية هي نفسها. وهناك عادة شذوذات مرافقة بالنمو تشمل قصر القامة وقصر العظام السنعية أو المشطية والتخلف العقلي. وهناك عدة أنماط من قصور الدريقية الكاذب، التي يمكن أن تُعزى إلى (1) العوز الجزئي للبروتين Gs المنظم لسيكلاز الأدينيليل، (2) خطوة معيبة تتلو تشكيل الـ cAMP.

ينجم فرط الدريقية (Hyperparathyroidism)، أي الإنتاج المفرط لـ PTH، عن وجود ورم غدي دريقي وظيفي عادة، لكن يمكن أن ينجم عن فرط التنسج (Hyperplasia) في الدريقات أو عن الإنتاج المنتبذ (Ectopoic) للـ PTH أو للببتيد القريب للـ PTH (PTHRP). حيث أن PTHRP هو بروتين مؤلف من 141 حمضاً أمينياً ويشابه PTH بنيوياً ووظيفياً، بخاصة في المنطقة الطرفية الأمينية منه. وقد وجد PTHRP في سرطانات مختلفة. وهو يترافق مع فرط الكلسمية في الخباثة. وتكون العلامات الكيميائية الحيوية لفرط الدريقية هي ازدياد كل من الكالسيوم المؤين والـ PTH في المصل وكظم مستويات الفسفات في المصل. وتتضمن الموجودات في فرط الدريقية طويل الأمد الارتشاف الواسع للعظم وتأثيرات متنوعة في الكلية، منها الحصيات الكلوية والكلاس الكلوي وعداوى متكررة في السبيل البولي، ونقص الوظيفة الكلوية (في الحالات الشديدة).

يمكن أن يشاهد فرط الدريقية الثانوي، الذي يتميز بفرط تنسج الغدد وفرط إفراز الـ PTH، وذلك لدى المصابين بالقصور الكلوي المتقدم. ويفترض أن فرط الدريقية عند هؤلاء المرضى ناجم عن نقص في تحول 25(OH)-D3 إلى 1,25 $(OH)_2$-D_3 في المتن الكلوي المعتل، والذي يؤدي إلى نقص في امتصاص الكالسيوم في الأمعاء ولتحرر الـ PTH بشكل ثانوي في محاولة تعويضية للحفاظ على مستويات الكالسيوم السوية في السائل خارج الخلوي.

يؤثر $1.25(Oh)_2$-D_3 في عدد من مظاهر استتباب الكالسيوم:

نظرة تاريخية:

كان الرخد (الكُسَاح: Rickets)، وهو اضطراب في عهد الطفولة يتصف بنقص في تمعدن الهيكل وبتشوهات عظمية شديدة تصيب بالعرج، شائعاً في أمريكا الشمالية وأوروبا الغربية في بداية القرن العشرين. وقد اقترحت نتائج سلسلة من الدراسات أن الرخد كان ناجماً عن نقص غذائي. وبعد اكتشاف أنه يمكن الوقاية من الرخد بتناول زيت كبد سمك القد، وبأن المقوم النشيط في هذا العامل لم يكن الڤيتامين A، فقد أطلق على العامل الوقائي تسمية الڤيتامين D الذواب في الشحم.

وفي الوقت نفسه تقريباً، تبين أن الضوء فوق البنفسجي الصنعي أو من أشعة الشمس يمنع حدوث هذا الاضطراب أيضاً. وتم فيما بعد تحديد وجود شكل مكافئ للرخد عند البالغين هو تلين العظام (Osteomalacia)، الذي يوجد فيه قصور في تمعدن العظم، يستجيب أيضاً للڤيتامين D. وقد ظهرت مفاتيح نحو المزيد من التطور من ملاحظة مفادها أن المرضى بأمراض الكبد أو الكلية لا يستجيبون بشكل سوي للڤيتامين D. وقادت عدة دراسات إلى توضيح سبيل التركيب الحيوي اللازم لتشكيل $1.25(OH)_2$-D_3، وهو الناتج اليض النشيط للڤيتامين D.

ينبه $1.25(OH)_2$-D_3 الامتصاص المعوي للكالسيوم والفسفات:

يعد $1.25(OH)_2$-D_3 الهرمون الوحيد الذي يستطيع تعزيز إزفاء الكالسيوم ضد مدروج التركيز الذي يوجد عبر غشاء الخلية المعوية. ونظراً لأنه يتم تنظيم إنتاج $1.25(OH)_2$-D_3 بشكل دقيق للغاية (الشكل 47-3)، فإنه توجد آلية دقيقة للتحكم بالـ Ca^{2+} في السائل خارج الخلوي على الرغم من التموج الواضح في محتوى الكالسيوم في الطعام، وهذا يضمن وجود تركيز مناسب للكالسيوم والفسفات من أجل التوضع (الترسب) بشكل بلورات هيدروكسي الأباتيت على لييفات الكولاجين في العظم. وفي عوز الڤيتامين D (عوز $1.25(OH)_2$-D_3)، يتباطأ تشكيل العظم الجديد وتضطرب أيضاً إعادة بناء النسيج العظمي. وتنظم هذه العمليات بشكل رئيسي بالـ PTH الذي يعمل على الخلايا العظمية، لكن من الضروري أيضاً توافر تراكيز صغيرة من $1.25(OH)_2$-D_3، ويمكن لـ $1.25(OH)_2$-D_3 أن يعزز أيضاً أفعال الـ PTH في إعادة امتصاص الكالسيوم في الكلية.

يشمل تخليق $1.25(OH)_2$-D_3 وأيضه عدة نسج وهي عمليات مُنَظَّمة بدقة:

أ – التخليق الحيوي: يتشكل $1.25(OH)_2$-D_3، كما جرى وصفه سابقاً في الحالة السوية، عند الأفراد المعرضين لكفاية من أشعة الشمس. لذلك فهو ليس ڤيتاميناً.

وفي الواقع، فهو يعد هرموناً في كل النواحي ويتم إنتاجه بسلسلة معقدة من التفاعلات الإنزيمية التي تشمل النقل البلازمي للجزيئات الطليعية نحو عدد من الأنسجة المختلفة (الشكل 47-3). وتنقل الجزيئة النشيطة، $1.25(OH)_2$-D_3، إلى أعضاء أخرى، حيث تقوم بتنشيط العمليات البيولوجية بأسلوب مشابه لذلك الذي يستخدم من قبل الهرمونات الستيرويدية.

1 – الجلد: توجد كميات صغيرة من الڤيتامين D في الطعام (زيت كبد السمك ومح البيض)، لكن يتم إنتاج معظم الڤيتامين D المتاح لتخليق $1.25(OH)_2$-D_3 في الطبقة المالبيكية من البشرة بدءاً من 7–كوليسترول منزوع الهيدروجين في تفاعل تحلل ضوئي غير إنزيمي متواسط بالضوء فوق البنفسجي. وتتعلق درجة هذا التحول بشكل مباشر بشدة التعرض، وتتناسب عكسياً مع درجة التصبغ في الجلد. ويوجد فقدان متعلق بالعمر في 7– كوليسترول منزوع الهيدروجين في البشرة، الذي قد يكون متعلقاً بالتوازن السلبي للكالسيوم المترافق مع تقدُّم العمر.

2 – الكبد: يقوم بروتين نقل نوعي يدعى البروتين الرابط للڤيتامين D بربط الڤيتامين D_3 ومتأيضات، ويُحَرِّك الڤيتامين D3 من الجلد أو الأمعاء إلى الكبد، حيث يخضع للهدرلة في الموضع 25، وهو التفاعل الحتمي الأول في إنتاج $1.25(OH)_2$-D_3 وتجري الهدرلة – 25 في الشبكة الهيولية الباطنية بتفاعل يتطلَّب المغنيزيوم وNADPH والأكسجين الجزيئي وعاملاً هيولياً غير مميز. ويسهم في ذلك إنزيمان هما مختزلة السيتوكروم P450 المعتمد على NADPH والسيتوكروم P450. وهذا التفاعل غير منظم، وهو يحدث أيضاً بفاعلية منخفضة في الكلية والأمعاء. ويدخل $25(OH)D_3$ للدوران، حيث يكون الشكل الرئيسي للڤيتامين D الموجود في البلازما، وينقل إلى الكلية بوساطة البروتين الرابط للڤيتامين D

3 – الكلية: إن $25(OH)D_3$ ناهضة (شادة) ضعيفة وينبغي تعديلها بالهدرلة عند الموضع C_1 للوصول إلى الفعالية البيولوجية الكاملة. ويتحقق ذلك في متقدرات النبيب الكلوي الملفف الداني في تفاعل معقَّد تتدخل فيه ثلاثة مكونات لأحادية الأكسيجيناز ويحتاج لـ NADPH ولـ Mg^{2+} وللأكسجين الجزيئي، ولثلاثة إنزيمات على الأقل: (1) فلافو بروتين وهو مختزلة الفرودوكسين الكلوي؛ (2) وبروتين سلفور

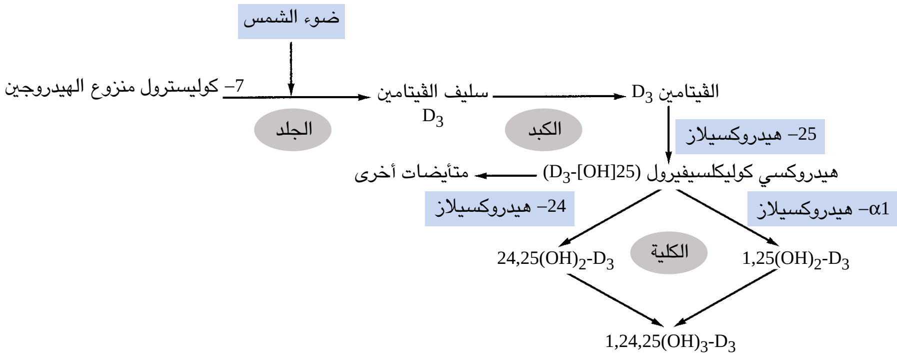
الحديد، الفرودوكسين الكلوي، و (3) السيتوكروم P450. وتنتج هذه الجملة 1.25 $(OH)_2$-D_3، الذي يعدُّ أقوى مستقلبات الڤيتامين D الموجودة في الطبيعة.

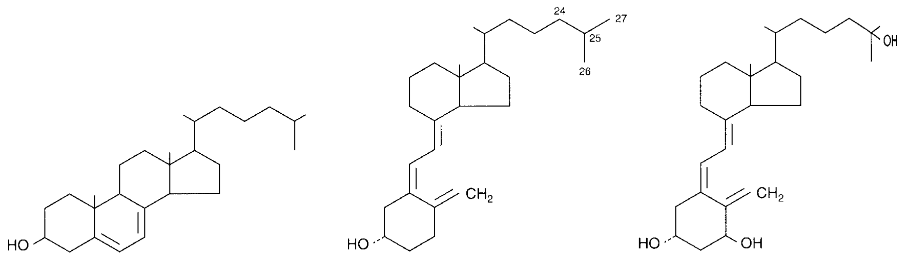
4 – الأنسجة الأخرى: تملك المشيمة α1– هيدروكسيلاز، لذلك يبدو أنها مصدر خارج كلوي مهم لـ 1.25$(OH)_2$-D_3 وتوجد الفعالية الإنزيمية في العديد من النسج الأخرى، بما في ذلك العظم، إلا أنه يبدو أن الأهمية الفيزيولوجية تكون في الحدود الدنيا، لأنه يوجد القليل جداً من 1.25$(OH)_2$-D_3 في الحيوانات مستأصَلة الكلية غير الحوامل.

ب – تنظيم الأيض والتخليق: يكون 1.25$(OH)_2$-D_3، على غرار باقي الهرمونات الستيرويدية، معرضاً لتنظيم قوي بالارتجاع (الشكل 47-3 والجدول 47-1). ويؤدي كل من القوت الفقير بالكالسيوم ونقص الكلسمية إلى زيادات واضحة في فعالية α1– هيدروكسيلاز عند الحيوانات السليمة. ويحتاج هذا التأثير للـ PTH، الذي يتحرر أيضاً استجابة لنقص الكلسمية إلا أنه لم يُفسَّر فعل الـ PTH بعد، لكنه ينبه فعالية α1– هيدروكسيلاز عند كل من الحيوانات معوزة الڤيتامين D والمعالجة به. كما يحرض القوت الفقير بالفسفور ونقص الفسفاتمية فعالية α1– هيدروكسيلاز، لكن يبدو أن هذا منبه أضعف من ذلك الذي يُحْدثه نقص الكلسمية.

إن 1.25$(OH)_2$-D_3 منظِّم مهم لإنتاجه الذاتي. حيث أن المستويات المرتفعة من 1.25$(OH)_2$-D_3 تثبط α1– هيدروكسيلاز الكلوي وتنبه تشكيل 24– هيدروكسيلاز الذي يؤدي إلى تشكيل 24,25$(OH)_2$-D_3 وهو ناتج جانبي. ومن الواضح أنه غير نشيط. وتسبب كل من الإستروجينات والبروجستينات والأندروجينات ازدياداً واضحاً في α1– هيدروكسيلاز عند الطيور في مرحلة الإباضة. ولم يتأكد بعد الدور الذي تلعبه هذه الهرمونات إلى جانب كل من الإنسولين وهرمون النمو والبرولاكتين عند الثدييات.

يمكن تعديل جزيء الستيرول الأساسي بوساطة سبل أيضية بديلة، أي بالهدرلة في المواضع 1 و 23 و 24 و 25 و 26 وبتشكيل عدد من اللاكتونات. وقد عثر على أكثر من 20 مستقلباً؛ لم يُبد واحد منها فعالية بيولوجية بشكل واضح.





7– كوليسترول منزوع الهيدروجين **الڤيتامين D_3** **$1,25(OH)_2$-D_3**

الشكل 3-47 : تشكيل الڤيتامين D_3 وهدرلته. تجري الهدرلة –25 في الكبد، أما باقي تفاعلات الهدرلة فتجري في الكلى. ويتشكل على الأرجح أيضاً كل من 25، 26 D_3-$(OH)_2$، و 1, 25, 26 D_3-$(OH)_3$.

ويظهر في الشكل أيضاً صيغ كل من 7–كوليسترول منزوع الهيدروجين والڤيتامين D_3 و 1, 25 D_3-$(OH)_2$

المنظمات الأولية	المنظمات الثانوية
نقص الكلسمية (↑)	الإستروجينات
PTH (↑)	الأندروجينات
نقص الفسفاتمية (↑)	البروجستيرون
الكالسيتريول (↓)	الإنسولين
	هرمون النمو
	البرولاكتين
	الهرمون الدرقي

الجدول 1-47: تنظيم α1 – هيدروكسيلاز الكلوية.

يعمل $1,25(OH)_2\text{-}D_3$ على المستوى الخلوي بأسلوب مماثل للهرمونات الستيرويدية:

أظهرت الدراسات باستخدام $1,25(OH)_2\text{-}D_3$ النشيط إشعاعياً أنه يتوضع في كلٍ من نوى خلايا الزغابات والخبيئات المعوية وبانيات العظم وخلايا النبيبات القاصية الكلوية. ويوجد أيضاً تراكم نووي لهذا الهرمون في خلايا لم يكن متوقعاً سابقاً أنها من أهدافه، منها الخلايا في الطبقة المالبيجية الجلدية وخلايا الجزيرات البنكرياسية وبعض الخلايا الدماغية وبعض الخلايا في النخامى والمبيض والخصية والمشيمة والرحم وغدة الثدي والتوتة والطلائع النقيانية (النخاعية). ولوحظ أيضاً ارتباط $1,25(OH)_2\text{-}D_3$ في الخلايا الدريقية، مما يؤدي إلى احتمال خادع بأنه قد يسهم في أيض الـ PTH.

أ – مستقبلة $1,25(OH)_2\text{-}D_3$: إن مستقبلة $1,25(OH)_2\text{-}D_3$ عضو في فصيلة المستقبلات الستيرويدية (الشكل 48-7). وتقوم منطقة ارتباط اللجين في هذه المستقبلة بربط $1,25(OH)_2\text{-}D_3$ بألفة عالية وبسعة منخفضة. ويكون هذا الارتباط قابلاً للإشباع ونوعياً وعكسياً. ويوجد في المستقبلة منطقة لارتباط بالدنا (DNA) والتي يبدو أنها تحوي نموذج إصبع الزنك المميز للمستقبلات الستيرويدية الأخرى. ويرتبط معقد مستقبلة ـ $1,25(OH)_2\text{-}D_3$ بعنصر الاستجابة للڤيتامين D في التسلسل AGGTANNNAGGTCA (الجدول 44-3). وكما نوهنا سابقاً يرتبط مستقبلة $1,25(OH)_2\text{-}D_3$ المرتبط باللجين بعنصر الاستجابة القريب الخاص به في معزاز جين الـ PTH ويقوم بالتنظيم الأدنى للانتساخ.

ب – نواتج الجين المعتمدة على $1,25(OH)_2\text{-}D_3$: لقد أصبح من المعروف على مدى سنوات عديدة أن استجابة النقل المعوي، تجاه $1,25(OH)_2\text{-}D_3$ تتطَّلب تخليق الرنا (RNA) والبروتين. وتفترض الملاحظة عن ارتباط مستقبلة $1,25(OH)_2\text{-}D_3$ بالكروماتين في النواة بأن $1,25(OH)_2\text{-}D_3$ ينبه الانتساخ الجيني وتشكيل mRNAs نوعية. وكمثال نذكر مما سجلته التقارير عن تحريض mRNA الذي يرمِّز البروتين الرابط للكالسيوم (CBP).

تقوم عدة بروتينات في العصارة الخلوية بربط Ca^{2+} بألفة عالية. وهناك مجموعة واحدة مؤلفة من عدة بروتينات مختلفة في الكتلة الجزيئية والاستضداد والتوضع النسيجي (المعى والجلد والعظم). وتكون معتمدة على $1,25(OH)_2$-D_3. ونذكر من بين هذه البروتينات الـ CBP المعوي الذي درس بشكل مكثَّف. ولا يوجد CBP في أمعاء الجرذان معوزة الڤيتامين D، كما أن تركيز CBP يتعلق إلى درجة كبيرة بدرجة التوضع النووي لـ $1,25(OH)_2$-D_3.

جـ – تأثيرات $1,25(OH)_2$-D_3 في المخاطية المعوية: يحتاج نقل الـ Ca^{2+} أو PO_4^{3-} خلال المخاطية المعوية إلى: (1) القبط عبر الحافة الفرشاتية والغشاء الزغيبي؛ (2) والنقل عبر غشاء الخلايا المخاطية؛ و (3) التدفق عبر الغشاء القاعدي الجانبي نحو السائل خارج الخلوي. ومن الواضح أن $1,25(OH)_2$-D_3 يعزِّز واحدة أو أكثر من هذه الخطوات، لكن لم يجر بعد إثبات الآلية الدقيقة. وكان يعتقد أن CBP يسهم بنشاط في ذلك، إلى أنه لوحظ أن إزفاء الـ Ca^{2+} يحدث خلال 1-2 ساعة بعد إعطاء $1,25(OH)_2$-D_3 وقبل أن يزداد CBP استجابة لـ $1,25(OH)_2$-D_3. وقد يقوم CBP بربط الـ Ca^{2+} ويقي خلايا المخاطية من التدفقات الكبيرة للـ Ca^{2+} المتزامنة مع عملية النقل. ويقوم عدد من الباحثين باستقصاء البروتينات الأخرى التي قد تساهم في نقل الـ Ca^{2+}، في حين يفترض آخرون أن هذه العملية، بخاصة الازدياد المبكر لتدفق الـ Ca^{2+}، قد يتواسطها تغير في الغشاء. وقد أشير إلى تورط مستقلبات متعددات الفسفوإينوزيتيد في هذه العملية.

د – الفيزيزلوجية المرضية: الرخد هو اضطراب يحدث في الطفولة ويتصف بانخفاض مستويات الكالسيوم والفسفور في البلازما وبتمعدن ضعيف بالعظام مع تشوهات هيكلية مرافقة. وينجم الرخد بشكل شائع عن عوز الڤيتامين D. وهناك نمطان من الرخد المعتمد على الڤيتامين D. حيث أن النمط I هو خلة وراثية كروموسومية جسدية متنحية تتميز بعيب في تحويل $25(OH)D_3$ إلى $1,25(OH)_2$-D_3. أما النمط II فهو اضطراب كروموسومي جسدي متنح يوجد فيه تغير في حمض أميني واحد في واحد من أصابع الزنك في منطقة ارتباط الدنا (DNA). وهذا يؤدي إلى مستقبلة غير وظيفية.

يؤدي عوز الڤيتامين D عند البالغ إلى تلين العظام. ويتناقص امتصاص الكالسيوم والفسفور، وكذلك الأمر بالنسبة لمستويات هذه الأيونات في السائل خارج الخلوي. ونتيجة لذلك، يضطرب تمعدن العظماني لتشكيل العظم، وبهذا الشكل يكون العظم سيء التمعدن ضعيفاً بنيوياً.

عندما يفقد المتن الكلوي الأساسي أو يصيبه مرض، يتناقص تشكيل 1,25 $(OH)_2$-D_3 ويكون امتصاص الكالسيوم منخفضاً. وعندما ينشأ نقص الكلسمية، فإنه يوجد ازدياد معاوض في الـ PTH، والذي يعمل على العظم في محاولة لزيادة الـ Ca^{2+} في السائل خارج الخلوي. ويعرف تقلب العظم الشديد والتغيرات البنيوية والأعراض المرافقة بالحثل العظمي الكلوي (Renal Osteodystrophy)، وتقوم المعالجة المبكرة بالڤيتامين D بوقف هذه العملية.

إن دور الكلسيتونين في استتباب الكالسيوم عند الإنسان غير واضح:

الكلسيتونين (Calcitonin) (CT) ببتيد مؤلف من 32 حمضاً أمينياً. يُفرز من الخلايا C جنيب الجريبية في الغدة الدرقية عند الإنسان وبدرجة أقل شيوعاً الدريقية أو التوتة أو من خلايا مشابهة تتوضع في الغدة الغلصمية (الخيشومية) النهائية في الأنواع الأخرى. وتنشأ هذه الخلايا في العرف العصبي وهي ترتبط من الجانب الكيميائي الحيوي بالخلايا لعدد واسع من الغدد الصماوية الأخرى.

إن جزيء الكلسيتونين الكامل، بما في ذلك العروة ذات الطرف الأميني المؤلف من سبعة عناصر والمتشكلة بجسر سيستيين ـ سيستيين، ضرورية للنشاط البيولوجي. ويوجد تفاوت هائل في تسلسل الأحماض الأمينية للـ CT بين الأنواع (يتشارك CT عند الإنسان والخنزير بـ 14 فقط من بين الـ 32 حمضاً أمينياً)، لكن على الرغم من هذه الفروق فإنه يوجد نشاط حيوي متقاطع بين الأنواع. والجدير ذكره هنا أن أكثر جزيئات الـ CT الموجودة في الطبيعة قوة هو ذلك المعزول من سمك السلمون.

إن لـ CT تاريخاً لا يجاريه في ذلك أي هرمون آخر. فخلال سبع سنوات (1962-1968) اكتشف الـ CT، وعزل، وحدِّد تسلسله وتم تخليقه اصطناعياً، ومع ذلك بقي دوره في الفيزيولوجيا البشرية غير مؤكد.

الخلاصة:

يحتاج العديد من العمليات الفيزيولوجية والكيميائية الحيوية للكالسيوم. ويتوضع الكالسيوم بشكل رئيسي في العظم عند الثدييات، لكن توجد نسبة مئوية قليلة جداً من الإجمالي في السائل خارج الخلوي. ويكون الكالسيوم في السائل خارج الخلوي موزعاً بالتساوي تقريباً بين شكل مرتبط بالبروتين وشكل حر أو مؤين (Ca^{2+})، حيث أن الشكل الأخير هو النشيط بيولوجياً. ويوجد تحملٌ ضعيف للانحراف عن المجال السوي للـ Ca^{2+} الذي هو بين 1.1-1.3 ممول/ل عند معظم الأنواع. ويتم الحفاظ على هذا التحكم الدقيق بجملة متعددة الأعضاء (الكبد والجلد والكلية والعظم والمعى والدريقات) ومتعددة الهرمونات (الهرمون الدريقي [PTH]، و $1,25(OH)_2$-D_3 والكالسيتونين).

يجري تخليق PTH بشكل سلف طليعة هرمونية من 115 حمضاً أمينياً. وهو ينشطر بشكل متتابع عند موضعين لتشكيل هرمون ناضج من 84 حمضاً أمينياً. ويتعطل الـ PTH عند انشطاره بين الثمالتين 36 و 37. وتُنظَّم هذه العملية، التي تحدث في الدريقات والأنسجة المحيطية، بوساطة الـ Ca^{2+} كما هو حال إفراز الهرمون من الدريقات. ويستهل مستقبل الـ Ca^{2+} على السطح الخلوي الذي تم اكتشافه مؤخراً هذه الحوادث. ويرتبط الـ PTH، وهو هرمون ببتيدي، بالمستقبلات على السطح الخلوي في الخلايا العظمية والكلوية. ويؤدي هذا التآثر إلى توليد cAMP الذي يعد المرسال داخل الخلوي لفعل الـ PTH.

يجري تخليق $1,25(OH)_2$-D_3 من خلال سلسلة من التفاعلات التي تحدث في الجلد والكبد والكلية. وتحدث الهدرلة بالموقع $\alpha 1$ وهي الأكثر أهمية في الكلية، ويجري تنظيمها بالـ Ca^{2+} والفسفات $1,25(OH)_2$-D_3 بنفسه. ويعد $1,25(OH)_2$-D_3 هرموناً من صف الهرمونات الستيرويدية الدرقية. لذلك فهو يعمل بالارتباط

بمستقبلة داخل الخلية، ويرتبط معقد مستقبلة ـ لجين بعنصر الاستجابة للڤيتامين D النوعي للتأثير في انتساخ الجين. وتكون الأهداف الأساسية لهذا الفعل هي الجينات المساهمة في نقل الكالسيوم إلى خلايا الزغابات المعوية ومنها.

*** References:**

Brown EM et al: Calcium-ion-sensing cell-surface receptors. *N Engl J Med* 1995;333:234.

DeLuca HF: The vitamin D story: A collaborative effort of basic science and clinical medicine. *FASEB* J 1988;2: 224.

Hawa NS et al. Binding of 1,25-dihydroxy vitamin D3 receptors to the 5'-flanking region of the bovine parathyroid hormone gene. *Endocrinology* 1994;142:53.

Kronenberg HM et al: Parathyroid hormone: Biosynthesis, secretion, chemistry and action. In: *Handbook of Experimental Pharmacology*. Mundy GR, Martin TJ (editors). Springer, 1993.

Kumar R: Vitamin D and calcium transport. *Kidne Int* 1991;40:1177.

Martin TJ, Udagawa N: Hormonal regulation of *osteclast* function. *Trends Endocrinol Metab* 1998;9:6.

Orloff JJ et al: Parathyroid hormone-related protein as a prohormone: Post-translational processing and interactions. *Endocr Rev* 1994;15:40.

Russell J et al: Interaction between calcium and 1,25-dihydroxy-vitamin D_3 in the regulation of pre-*proparathyroid* hormone and vitamin D receptor mRNA in avian parathyroids. *Endocrinology* 1993;132:2639.

الفصل الثامن والأربعون

هرمونات قشر الكظر

Hormones of the Adrenal Cortex

الاختصارات المستخدمة في هذا الفصل

الإنزيم المحول للأنجيوتنسين	ACE
الهرمون الموجه لقشر الكظر	ACTH
الهرمون المضاد لإدرار البول (الإبالة)	ADH
الجلوبلين الرابط للستيرويد القشري	CBG
الهرمون المطلق للموجهة القشرية	CRH
إيبي أندروستيرون منزوع الهيدروجين	DHEA
الكورتيكوستيرون منقوص الأكسجين	DOC
هرمون النمو	GH
عنصر الاستجابة للقشرانيات السكرية	GRE
وحدة الاستجابة الهرمونية	HRU
نازعة هيدروجين 3β– هيدروكسي ستيرويد	3β-OHSD
كربوكسي كيناز فسفوإينول البيروڤات	PEPCK
طليعة الكورتين الميلاني الأفيوني	POMC
الهرمون الدريقي	PTH
(البروتين) المنظِّم الحاد لتكون الستيرويدات	STAR
الجلوبيولين الرابط للهرمون الدرقي (للثيروكسين)	TBG

مقدمة:

يقوم قشر الكظر بتخليق العشرات من الجزيئات الستيرويدية المختلفة، لكن القليل منها فقط يتمتع بفعالية بيولوجية. وهي تصنف إلى ثلاثة صفوف من الهرمونات: القشرانيات السكرية، والقشريات المعدنية، والأندروجينات. وتستهل هذه الهرمونات أفعالها بالارتباط مع مستقبلات نوعية دشاخل خلوية، ويرتبط هذا المعقد بمناطق نوعية من الدنا DNA لتنظيم التعبير الجيني. وهذا يؤدي إلى تغير معدلات تخليق عدد صغير من البروتينات، والذي يؤثر بدوره في العديد من العمليات الأيضية، كاستحداث السكر وتوازن Na^+ و K^+.

الأهمية الطبية البيولوجية:

هرمونات قشر الكظر، وبخاصة القشرانيات السكرية، مكون أساسي في التلاؤم مع الكروب الشديدة. وتكون القشرانيات المعدنية ضرورية لتوازن Na^+ و K^+. وتستخدم المضاهئات الصنعية لكلا الصفين علاجياً. فالعديد من مضاهئات القشرانيات السكرية هي بشكل خاص عوامل قوية مضادة للالتهاب. ويؤدي فرط أو نقص المستويات البلازمية لأي من هذه الصفوف الثلاثة من الهرمونات سواء كانت ناجمة عن المرض أو الاستعمال العلاجي، إلى مضاعفات خطيرة، مهددة للحياة أحياناً. وهناك سلسلة من حالات العوز الإنزيمية الوراثية تساعد في تحديد الخطوات المساهمة في تكون الستيرويدات وتوضيح سعة قشر الكظر على تغيير المعدلات النسبية لإنتاج هذه الهرمونات المختلفة.

يصنع قشر الكظر ثلاثة أنواع من الهرمونات:

يوجد في قشر الكظر عند الإنسان البالغ ثلاث طبقات أو مناطق متميزة يطلق عليها تسمية المنطقة الكبيبية (Zona Glomerulosa)، وهي مرتبطة بإنتاج القشرانيات المعدنية. والمنطقة التالية هي المنطقة الحُزْمية (Zona Fasciculata)، التي، إلى جانب المنطقة الشبكية (Zona Reticularis)، تنتج القشرانيات السكرية والأندروجينات.

لقد تم عزل وبلورة نحو 50 ستيرويداً من النسيج الكظري. ويكون معظمها متوسطات؛ حيث لا يفرز إلا عدد قليل منها بكميات معتبرة؛ يكون لبعض منها فعالية هرمونية مهمة. ويصنع قشر الكظر ثلاثة أصناف عامة من الهرمونات الستيرويدية، التي تصنف لمجموعات بناء على فعلها السائد. ويوجد تراكب في الفعالية البيولوجية، لأن جميع القشرانيات السكرية الطبيعية تمتلك الفعالية القشرانية المعدنية، والعكس بالعكس.

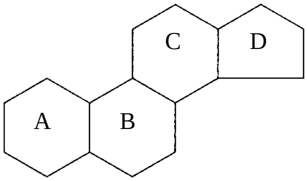
ويمكن الآن فهم ذلك على أساس عمومية عناصر الاستجابة الهرمونية التي تتواسط تأثيرات هذه الهرمونات (والبروجستينات) على المستوى الجيني (انظر الجدول 44-3).

القشرانيات السكرية (Glucocorticoids) هي ستيرويدات من 21 كربوناً ولها العديد من الأفعال، أكثرها أهمية هو تعزيز استحداث السكر. ويعد الكورتيزول (Cortisol) القشراني السكري السائد عند الإنسان، يصنع في المنطقة الحزمية. أما الكورتيكوستيرون (Corticosterone) الذي يصنع في المنطقة الحزمية والمنطقة الكبيبية، فهو أقل وفرة عند الإنسان، لكنه القشراني السكري السائد في القوارض. والقشرانيات المعدنية (Mineralocorticoids) هي ستيرويدات من 21 كربوناً أيضاً. والفعل الأساسي لهذه الهرمونات هو تعزيز احتباس Na^+ وإفراغ K^+ وH^+، في الكلية بشكل خاص. ويعد الألدوستيرون (Aldosterone) أقوى هرمون في هذا الصف، يصنع في الطبقة الكبيبية حصراً. وتنتج الطبقتان الحزمية والشبكية في قشر الكظر كميات معتبرة من الطليعة الأندروجينية «إيبي أندروستيرون منزوع الهيدروجين» (Dehydroepiandrosterone) ومن الأندروجين الضعيف «أندروستينيديون» (Androstenedione) وتتحول هذه الستيرويدات إلى أندروجينات أقوى في الأنسجة غير الكظرية، وتصبح مصدراً مرضياً للأندروجينات عندما تكون الإنزيمات النوعية المكونة للستيرويدات معوزة. ولا يجري تخليق الإستروجينات في الكظر السوي بكميات مهمة، لكن قد تنتج في بعض سرطانات الكظر، وتكون الأندروجينات من منشأ كظري طلائع مهمة للإستروجين (تتحول بالأرمتة المحيطية:

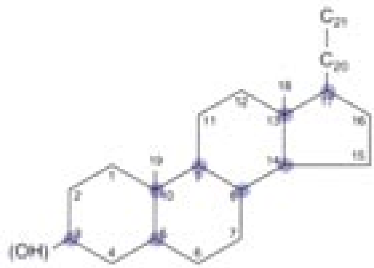
الأرمتة [Aromatization] هي تحويل مركب إلى شكل أروماتي أي عطري) لدى النساء بعد سن اليأس.

هناك تسمية خاصة تصف كيمياء الستيرويدات:

تمتلك كافة الهرمونات الستيرويدية بنية مشتركة مؤلفة من 17 كربوناً هي السيكلوبنتانو بيرهيدروفينانثرين (Cyclopentanoperhydrophenanthrene)، مع أربع حلقات مسماة بالأحرف من A إلىD (الشكل 48-1). ويمكن إضافة ذرات كربون أخرى عند الموضعين 10 و 13، أو كسلسلة جانبية متصلة بـ C_{17}. وتختلف الهرمونات الستيرويدية وطلائعها ومستقلباتها في عدد المجموعات المستبدلة ونمطها، وفي عدد الروابط المضاعفة وتوضعها، وبالهيئة الكيميائية الفراغية. وقد وضعت توصية بإطلاق تسمية دقيقة للإشارة إلى هذه الصيغ الكيميائية. وتسمح ذرات الكربون اللامتناظرة (المظللة على الجزيئة C_{17} في الشكل 48-1) بالمصاوغة الفراغية (Stereoisomerism). وتبرز مجموعات الميثيل في الزاويا (C_{18} , C_{19})عند الموضعين 10 و 13 أمام الجملة الحلقية، هي تفيد كنقطة مرجعية. ويجري تمثيل الاستبدال النووي في المستوى نفسه، حيث يشار لهذه المجموعات بمقرون Cis أو "β" برسمها بخطوط قاتمة. أما الاستبدالات التي تبرز خلف مستوى الجملة الحلقية فيشار إليها بمفروق (Trans) أو "α"، وتمثل بخط فاتح. ويشار إلى الروابط المضاعفة برقم الكربون الذي يسبقها (مثلΔ^3، Δ^4). وتسمى الهرمونات الستيرويدية بحسب وجود زمرة ميثيلية زاوية واحدة (الإستران، 18 كربوناً)، أو زمرتين ميثيليتين زاويتين (الأندروستان، 19 كربوناً) أو زمرتين زاويتين مع سلسلة جانبية من كربونين عند C_{17} (البريجنان، 21 كربوناً). ويجب أن تسمح هذه المعلومات (الشكل 48-2) إلى جانب المسرد في (الجدول 48-1)، بفهم الأسماء الكيميائية للهرمونات الطبيعية والصنعية المدرجة في (الجدول 48-2).



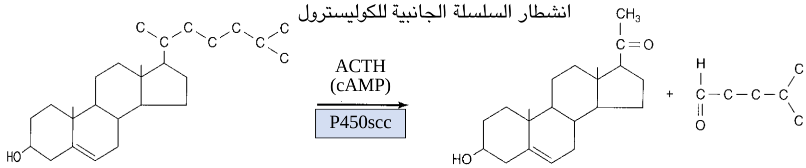
نواة السيكلوبنتان برهيدروفينانثرين



ترقيم ذرات الكربون. تم تظليل ذرات الكربون اللامتناظرة

الشكل 48-1 : الملامح البنيوية للجزيئات الستيرويدية.

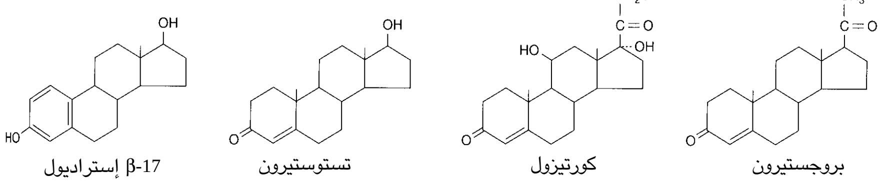
انشطار السلسلة الجانبية للكوليسترول



كوليسترول

إيزوكابروألدهيد + بريجنينولون

بنى الهرمونات الستيرويدية الأساسية



17-β إستراديول | تستوستيرون | كورتيزول | بروجستيرون

مجموعة الإستران (C18) | مجموعة الأندروستان (C19) | مجموعة البريجنان(C21)

الشكل 48-2 : انشطار السلسلة الجانبية للكوليسترول وبنى الهرمونات الستيرويدية الأساسية.

السابقة	اللاحقة	الطبيعية الكيميائية
هيدروكسي ــ	ــ أول (-Ol)	كحولات
داي هيدروكسي ــ (ثنائي هيدروكسي)	ــ ديول (-diol)	
أوكسو ــ	ــ أون (-one)	الكيتونات (مثال: ديون أي زمرتين كيتونيتين)
مقرون ــ		ترتيب زمرتين في المستوى نفسه بالنسبة لـ C19
مفروق ــ		ترتيب زمرتين في مستوى متعاكس لـ C19
α –		زمرة مفروقة بالنسبة لـ 19 – ميثيل
β –		زمرة مقرونة بالنسبة لـ 19 – ميثيل
ديوكسي ــ (منقوص الأكسجين)		لا توجد زمرة هيدروكسي
أيزو ــ أو إيبي ــ		مصاوغة عند الرابطة C-C أو C-OH أو C-H، مثل الأندروستيرون (a5) مقابل الأيزو أندروستيرون (b5)
دي هيدرو ــ (منزوع الهيدروجين)		نزع ذرتي هيدروجين لتشكيل رابطة مضاعفة
ثنائي هيدرو ــ		إضافة ذرتي هيدروجين إلى رابطة مضاعفة
ألو ــ		هيئة مفروقة للحلقتين A ، B.

الجدول 1-48 : تسمية الستيرويدات.

الجدول 48-2 : الأسماء الشائعة والكيميائية لبعض الستيرويدات.

الاسم العادي (الشائع)	الاسم الكيميائي
الألدوستيرون	β-11 ، 21 – ثنائي هيدروكسي -3، 20– ثنائي أكسو – 4– بريجين – 18 – آل
الأندروستينيدون	4 – أندروستين – 3، 17– ديون
الكوليسترول	5 – كوليستين – β3 – أول
الكورتيكوستيرون (المركب B)	β11 ، 21 – ثنائي هيدروكسي – 4 – بريجين – 3، 20– ديون
الكورتيزون (المركب F)	β11 ، a17، 21 – ثلاثي هيدروكسي – 4 – بريجنين – 3، 20 – ديون
الكورتيزون (المركب E)	a 17، 21 – ثنائي هيدروكسي – 4 – بريجنين –3، 11 ، 20 – تريون
إيبي أندروستيرون منزوع الهيدروجين (DHEA)	β3 – هيدروكسي – 5 – أندروستين – 17 – أون
11 – ديوكسي كورتيكوستيرون (DOC)	21 – هيدروكسي – 4 – بريجنين – 3، 20– ديون
11 – ديوكسي كوتيزول (المركب S)	17 ، 21 – ثنائي هيدروكسي – 4 – بريجنين –3 ، 20 – ديون
الديكساميتازون	α9 – فلورو – α16 – ميثيل – β11، α17 ، 21– ثلاثي هيدروكسي بريجنا – 1، 4 – ديين –3، 20 – ديون
الإستريول	1 ، 3 ، 5 (10) – إستراتريين – 3، αl6 ، β17 – تريول
الإسترون	3 – هيدروكسي – 1 ، 3 ،5 (10) إستراتربين –3– أول – 17 – أون
الإيتيوكولانولون	a3 – هيدروكسي – β5 – أندروستان – 17 – أون
α9 – فلوروكورتيزول	α9 – فلورو – β11 ، a17 ، 21 – ثلاثي هيدروكسي بريجنا – 4– رين، 3 ، 20 – ديون
البريدنيزولون	β11 ، α17 ، 21 – ثلاثي هيدروكسي بريجنا – 1 ، 4 – دنين – 3، 20 – ديون

الاسم العادي (الشائع)	الاسم الكيميائي
البريدنيزولون	11-α ، 21 – ثنائي هيدروكسي بريجنا -1 ، 4– ديين – 3 ، 11، 20 – تريون
البريجانديول	5β – بريجنان – 3α ، 20 α– ديول
البريجنانتريول	5β – بريجنان – 3α ، 17 α– ديول
البريجنينولون	3β – هيدروكسي –5 – بريجنين 20 – أون
البروجستيرون	4 – بريجنين – 3 ، 20 – ديون
التستوستيرون	17β – هيدروكسي –4 – أندروستين – 3 – أون
الترياسينولون	9α – فلورو – 11β ، 16α ، 17α ، 21 – رباعي هيدروكسي البريجنا –1، 4 – ديين – 3، 20 – ديون

تسهم عدة إنزيمات في التخليق الحيوي للهرمونات الستيرويدية الكظرية:

يجري تخليق الهرمونات الستيرويدية الكظرية من الكوليسترول الذي يشتق معظمه من البلازما، لكن يتم تخليق جزء صغير منه في الموضع بدءاً من أسيتيل ـ CoA، عن طريق الميڤالونات والسكوالين. ويؤستر الكثير من الكوليسترول في الكظر، ويختزن في قطيرات شحمية في الهيولى. وعند تنبيه الكظر بوساطة ACTH (أو cAMP) يتنشط إنزيم إستيراز، ويُنقل الكوليسترول الحر المتشكل إلى المتقدِّرة، حيث يقوم إنزيم شطر السلسلة الجانبية للسيتوكروم P450 (P450scc) بتحويل الكوليسترول إلى بريجنينولون. ويتضمن انشطار السلسلة الجانبية عدة تفاعلات هدرلة، أولاً عند C_{22} ثم عند C_{20}، ويلي ذلك انشطار السلسلة الجانبية (نزع قطعة سداسية الكربون هي الإيزو كابرو ألدهيد) لإعطاء ستيرويد من 21 كربوناً (الشكل 48-2). وهناك بروتين تنظيمي حاد لتكون الستيرويدات (STAR) معتمد على ACTH يكون ضرورياً لنقل الكوليسترول إلى P450scc في الغشاء المتقدري الداخلي.

ويعد أمينو جلوثيثيميد مثبطاً قوياً جداً لـ P450scc وللتخليق الحيوي للستيرويدات.

تتشكل جميع الهرمونات الستيرويدية عند الثدييات بدءاً من الكوليسترول عن طريق البريجنينولون من خلال سلسلة من التفاعلات التي تحدث إما في المتقدرات أو في الشبكة الهيولية الباطنية للخلية الكظرية. وتكون إنزيمات الهيدروكسيلاز التي تحتاج للأكسجين الجزيئي و NADPH ضرورية، كما يحتاج الأمر لتفاعلات نزع الهيدروجين والإيزوميراز (المصاوغة) والليياز لخطوات معينة. وتوجد بعض النوعية الخلوية في تكون الستيرويدات؛ فعلى سبيل المثال، توجد الهيدروكسيلاز 18– ونازعة هيدروجين 18– هيدروكسي ستيرويد، الضروريان لتخليق الألدوستيرون، في الخلايا الكبيبية فقط، بحيث يكون التخليق الحيوي لهذا القشراني المعدني مقتصراً على هذه المنطقة.

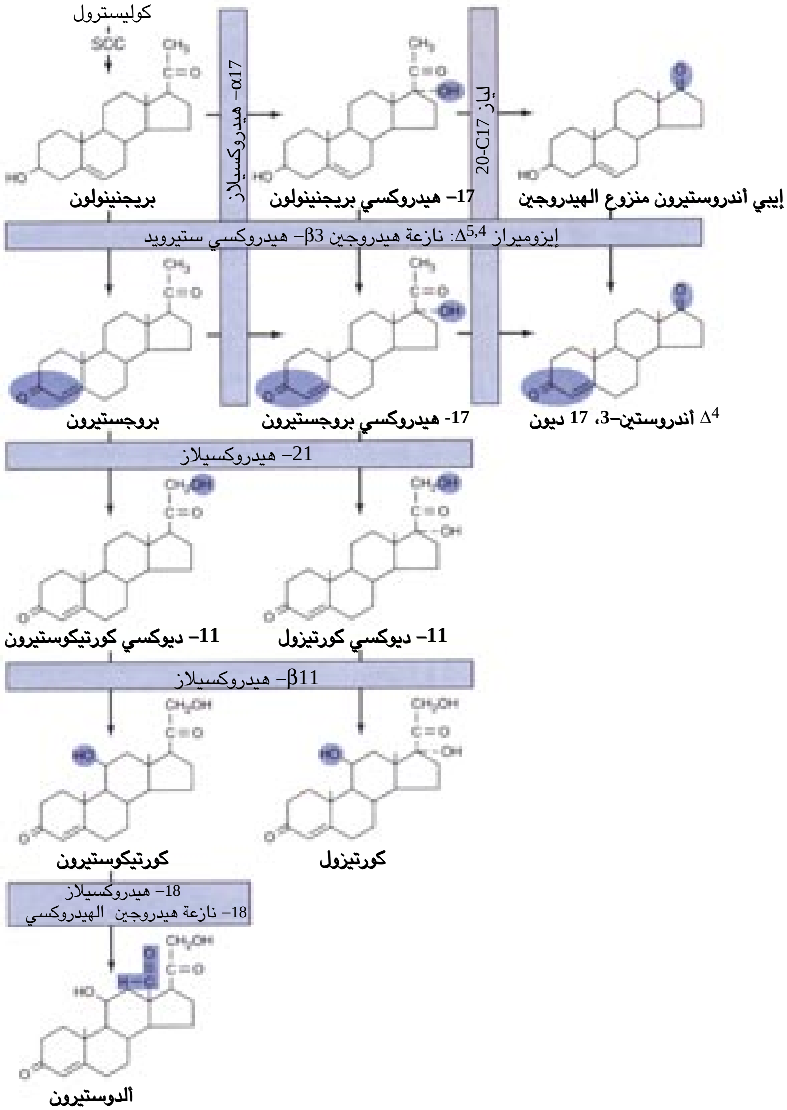
ويوضح (الشكل 48-3) تمثيلاً تخطيطياً للسبل المساهمة في تخليق الصفوف الثلاث الرئيسية من الستيرويدات الكظرية. وقد بُينت الإنزيمات ضمن مستطيلات وتم تظليل أماكن التعديلات في كل خطوة.

يجري تخليق القشرانيات المعدنية في المنطقة الكبيبية:

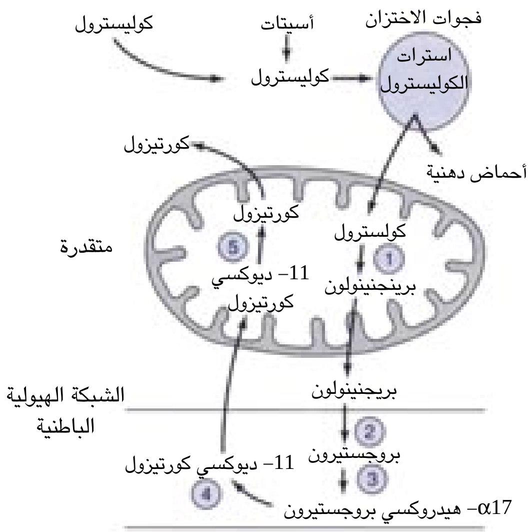
يتبع تخليق الألدوستيرون سبيل القشرانيات المعدنية ويحدث في المنطقة الكبيبية. حيث يتحول البريجنينولون إلى البروجستيرون بوساطة فعل إنزيمين في الشبكة الهيولية الباطنية الملساء، هما نازعة هيدروجين 3β– هيدروكسي ستيرويد (3β-OHSD) وإيزوميراز ($\Delta^{5,4}$) ويهدرل البروجستيرون عند الموضع C_{21} لتشكيل 11–ديوكسي كورتيكوكوستيرون (DOC)، الذي هو قشراني معدني نشيط حابس لـ Na^{+}). وتؤدي هدرلة إضافية عند الموضع C_{11} إلى إنتاج الكورتيكوستيرون، الذي يتمتع بفعالية القشراني السكري، وهو أيضاً قشراني معدني ضعيف (يتمتع بأقل من 5٪ من قوة الألدوستيرون) لكن، وفي بعض الأنواع (كالقوارض)، يكون القشراني المعدني الأقوى. تكون الهدرلة عند C_{21} ضرورية لكل من الفعالية

القشرانية المعدنية والقشرانية السكرية، لكن يكون لمعظم الستيرويدات التي فيها زمرة هيدروكسيل عند C_{17} فعلاً قشرانياً سكرياً أكبر وفعلاً قشرانياً معدنياً أقل. ويوجد في المنطقة لكبيبية، التي لا تحوي (17– هيدروكسيلاز إنزيم الشبكة الهيولية الباطنية الملساء، يوجد 18– هيدروكسيلاز المتقدري. ويعمل إنزيم 18– هيدروكسيلاز (سنتاز الألدوستيرون) على الكورتيكوستيرون لتشكيل 18– هيدروكسي كورتيكوستيرون، الذي يتغير إلى الألدوستيرون بتحويل الكحول–18 إلى ألدهيد. وقد قاد هذا التوزع الفريد للإنزيمات، والتنظيم الخاص للمنطقة الكبيبية (انظر فيما بعد)، بعض الباحثين إلى الاقتراح أنه بالإضافة إلى أن الكظر كناية عن غدتين فإن قشر الكظر في الواقع عضوان مستقلان.

أ– تخليق القشرانيات السكرية: يتطلب تخليق الكورتيزول ثلاث إنزيمات هيدروكسلاز تعمل بالتتابع على المواضع C_{17} و C_{21} وC_{11}. حيث يكون أول تفاعلين سريعان، في حين تكون الهدرلة C_{11} بطيئة نسبياً. وإذا تم أولاً هدرلة الموضع C_{21}، فإنه يعاق فعل α17– هيدروكسيلاز، ويلي ذلك سبيل القشرانيات المعدنية (فيتشكل الكورتيكوستيرون أو الألدوستيرون، بحسب النمط الخلوي). ويعد α17– هيدروكسيلاز إنزيماً في الشبكة الهيولية الباطنية الملساء الذي يعمل إما على البروجستيرون، أو بشكل أكثر شيوعاً، على البريجنينولون. وتجري هدرلة α17– هيدروكسي البروجستيرون عند C_{21} لتشكيل 11– ديوكسي كورتيزول، الذي يهدرل بعد ذلك عند الموضع C_{11} لتشكيل الكورتيزول، وهو أقوى هرمون قشراني سكري طبيعي عند الإنسان. ويعد 21– هيدروكسيلاز إنزيماً في الشبكة الهيولية الباطنية الملساء، في حين أن β11– هيدروكسيلاز إنزيم متقدري. وبهذا الشكل فإن تكون الستيرويدات يتضمن تحركاً مكُّوكياً للركائز من وإلى المتقدرات في الخلايا والشبكية (الشكل 48-4).



الشكل 48-3 : السبل المساهمة في تخليق الصفوف الثلاث الرئيسية للستيرويدات الكظرية. تظهر الإنزيمات ضمن صناديق مستطيلة الشكل، وتم تظليل التعديلات عند كل خطوة. لاحظ أن فعاليات α17 –هيدروكسيلاز ولياز 20– C17 هي جزء من إنزيم واحد، يشار إليه بـ P450OC17.



الشكل 48-4 : التحاوز دوين الخلوي للتخليق الحيوي للقشرانيات السكرية. يتضمن تكون الستيرويدات الكظرية تحركاً مكوكياً للطلائع بين المتقدرات والشبكة الهيولية الباطنية. الإنزيمات المشاركة هي (1) لياز C_{20-22}، (2) نازعة هيدروجين 3β– هيدروكسي ستيرويد وإيزوميراز $\Delta^{5,4}$ ، (3) 17 α–هيدروكسيلاز، (4) 12 –هيدروكسيلاز، و (5) 11β–هيدروكسيلاز.

ب – تخليق الأندروجينات: إن الإيبي أندروستيرون منزوع الهيدروجين (DHEA) هو الأندروجين الرئيسي أو الطليعة الرئيسية للأندروجين الذي ينتجه قشر الكظر. ويتبع معظم 17– هيدروكسي بريجنينولون سبيل القشرانيات السكرية، لكن يتعرض جزء صغير منها إلى انشطار تأكسدي ونزع السلسلتين الجانبيتين ثنائية الكربون من خلال فعل α17 – لياز. ويكون نشاط اللياز في الواقع جزءاً من الإنزيم نفسه ($P450c_{17}$) الذي يحفز إضافة الهدرلة– α17. لذلك فهو بروتين مزدوج الوظيفة. وتُعد فعالية اللياز مهمة في كل من الكظرين والغدد التناسلية، ويعمل على الجزيئات التي تحوي α17– هيدروكسي حصراً. ويزداد إنتاج الأندروجينات الكظرية بوضوح إذا أعيق التخليق الحيوي للقشرانيات السكرية بسبب عوز أحد إنزيمات

الهيدروكسيلاز. ويعدل معظم الـ DHEA بسرعة من خلال إضافة السلفات، حيث يحدث نحو نصف ذلك في الكظر والباقي في الكبد. وتكون سلفات DHEA عاطلة، لكن يؤدي نزع الفسفات إلى إعادة التنشيط. والـ DHEA هو بالفعل طليعة هرمونية، لأن أفعال 3β-OHSD والإيزوميراز $\Delta^{5,4}$ تحول الأندروجين الضعيف، أي DHEA، إلى الشكل القوي الآخر وهو الأندروستينيدون (Androstenedione). وتتشكل كميات قليلة من الأندروستينيديون في الكظر أيضاً بوساطة فعل اللياز في α17– هيدروكسي البروجستيرون. ويؤدي إرجاع الأندروستينيدون عند الموضع C_{17} إلى تشكيل التستوستيرون (Testosterone)، الذي هو الأندروجين الكظري الأكثر قوة. وتنتج كميات قليلة من التستوستيرون في الكظر بهذه الآلية، لكن يتم معظم هذا التحويل في أنسجة أخرى. يمكن عزل كميات صغيرة من الستيرويدات الأخرى من الدم الوريدي الكظري، بما في ذلك 11– ديوكسي كورتيكوستيرون والبروجستيرون والبريجنينولون و α17– هيدروكسي البروجستيرون، بالإضافة إلى كمية صغيرة جداً من الإستراديول (من أرمتة التستوستيرون). إلا أنه ليس لأي من هذه الكميات أهمية بالنسبة للإنتاج في الغدد الأخرى.

يؤثر إفراز الهرمونات الستيرويدية الكظرية ونقلها وأيضها في توافرها الحيوي:

إفراز الهرمونات الستيرويدية:

يجري اختزان القليل، في حالة حدوثه، من الهرمونات الستيرويدية ضمن الخلية الكظرية (أو بالغدد التناسلية)، لأن هذه الهرمونات تتحرر إلى البلازما عندما يتم صنعها. ويحدث تحرير الكورتيزول بدورية ينظمها النظم اليوماوي (Diurnal Rhythm) لتحرر الـ ACTH. وبالنتيجة فإن مستويات الكورتيزول تكون في أعلى مقدار لها صباحاً مباشرة بعد الاستيقاظ، وفي أخفض مستوياتها في وقت متأخر بعد الظهر وأول المساء.

النقل البلازمي:

أ – القشرانيات السكرية: يدور الكورتيزول في البلازما بشكلين: المرتبط بالبروتين والحُر. ويكون البروتين البلازمي الرابط الرئيسي هو α–جلوبين والذي يدعى ناقل الكورتين (Transcortin) أو الجلوبلين الرابط للستيرويد القشري (CBG). ويتم إنتاج الـ CBG في الكبد، ويزداد تخليقه، على غرار ذلك للجلوبلين الرابط للهرمون الدرقي (TBG)، بوساطة الأستروجينات. ويربط الـ CBG معظم الهرمون عندما تكون مستويات الكورتيزول البلازمية ضمن المجال السوي؛ وتكون كميات قليلة جداً من الكورتيزول مرتبطة بالألبومين. وتساعد شراهة الارتباط في تحديد الأعمار النصفية البيولوجية للقشرانيات السكرية المختلفة. ويرتبط الكورتيزول بقوة بـ CBG وله عمر نصفي يبلغ 1.5-2 ساعة، بينما الكورتيكوستيرون، الذي يرتبط بشكل أقل إحكاماً، عمره النصفي أقل من ساعة. ولا يكون الارتباط مع الـ CBG مقيداً بالقشرانيات السكرية. حيث يتآثر الديوكسي كورتيكوستيرون والبروجستيرون مع CBG بألفة كافية للتنافس على ارتباط الكورتيزول. ويشكل الجزء الحر أو اللامرتبط 8٪ تقريباً من كورتيزول البلازما الكلي، وهو يمثل الجزء النشيط بيولوجياً من الكورتيزول.

ب – القشرانيات المعدنية: لا يوجد للألدوستيرون، وهو القشراني المعدني الأقوى في الطبيعة، بروتين نقل نوعي في البلازما، لكنه يشكل ارتباطاً ضعيفاً مع الألبومين. أما الكورتيكوستيرون و 11–ديوكسي كورتيكوستيرون، وهما ستيرويدان آخران ذات تأثيرات قشرانية معدنية، فيرتبطان بالـ CBG. وهذه الملاحظات مهمة في فهم آلية فعل الألدوستيرون (انظر لاحقاً).

تعتمد معدلات الأيض والإفراغ على وجود بروتينيات حاملة أو غيابها:

أ – القشرانيات السكرية: يشكل الكورتيزول ومستقلباته 80٪ تقريباً من القشرانيات 17– هيدروكسي في البلازما؛ أما نسبة الـ 20٪ الأخرى فتشكل الكورتيزون و 11–ديوكسي كورتيزول. ويدور نحو نصف الكورتيزول (وكذلك الكورتيزون و 11– ديوكسي كورتيزول) بشكل مستقلات مرجعة ثنائية ورباعية

الهيدروجين والتي تنتج عن إرجاع الرابطة المضاعفة في الحلقة A بوساطة نازعات هيدروجين تحتاج لـ NADPH، وكذلك عن إرجاع الزمرة 3– كيتون بوساطة تفاعل نزع هيدروجين عكسي.

ويجري أيضاً تعديل كميات كبيرة من جميع هذه المركبات بالاقتران عند الموضع C_3 مع الجلوكورونيد، أو مع السلفات بدرجة أقل. وتحدث هذه التعديلات في الكبد بشكل رئيسي وهي تجعل من جزيء الستيرويد الأليف للشحم ذواباً في الماء وقابلاً للإفراغ. ويعاد عند الإنسان امتصاص معظم الستيرويدات المقترنة التي تدخل الأمعاء بالإفراغ الصفراوي، وذلك عن طريق الدوران المعوي الكبدي. ويفرغ نحو 70٪ من الستيرويدات المقترنة في البول، ويطرح 20٪ في البراز، ويخرج الباقي من خلال الجلد.

ب – **القشرانيات المعدنية**: يصفى الألدوستيرون بسرعة كبيرة من البلازما بوساطة الكبد، ومما لا شك فيه أن ذلك بسبب افتقاره إلى بروتين حامل له في البلازما، ويشكل الكبد رباعي هيدرو ألدوستيرون 3–جلوكورونيد، الذي يُفرغ في البول.

جـ –**الأندروجينات**: تفرغ الأندروجينات بشكل مركبات 17– كيتو بما فيها الـ DHEA (سلفات) والأندروستينيديون ومستقلباته. ولا يعد التستوستيرون، الذي يُفرزه الكظر بكميات صغيرة من مركبات الـ 17– كيتو، غير أن الكبد يحول 50٪ تقريباً من التستوستيرون إلى أندروستيرون وأيتيوكولانولون، التي هي من مركبات الـ 17– كيتو.

ينظم تخليق الهرمونات الستيرويدية الكظرية بآليات مختلفة:

الهرمونات القشرانية السكرية:

يعتمد إفراز الكورتيزول على الـ ACTH، الذي ينظم بدوره بوساطة الهرمون المطلق للموجهة القشرية (CRH). وترتبط هذه الهرمونات ببعضها بعروة ارتجاعية سلبية تقليدية (الجدول 45-1).

الهرمونات القشرانية المعدنية:

يُنظَّم إنتاج الألدوستيرون في الخلايا الكبيبية بأسلوب مختلف تماماً. حيث تكون المنظمات الرئيسية هي جملة الرينين ـ أنجيوتنسين والبوتاسيوم. كما يسهم في ذلك كل من الصوديوم و ACTH وآليات عصبية.

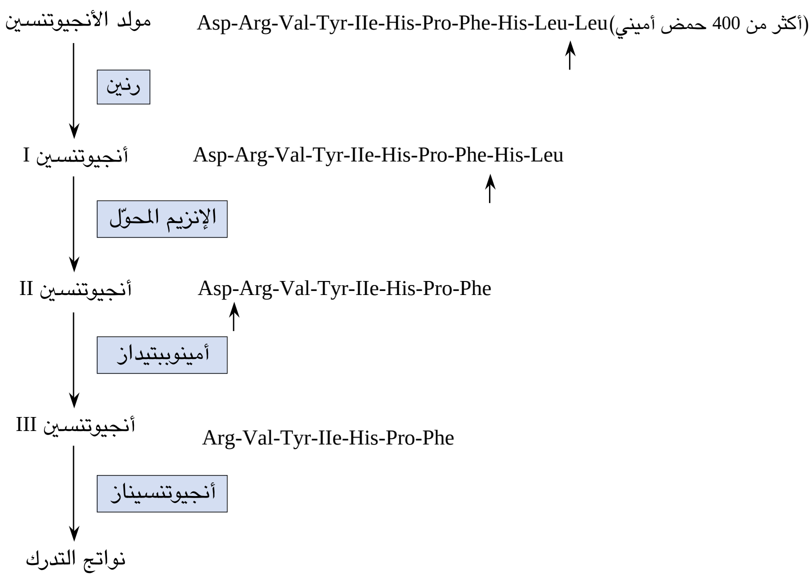
أ – جملة الرينين ـ أنجيوتنسين: تشارك هذه الجملة في تنظيم ضغط الدم وأيض الكهارل. ويكون الهرمون الأساسي في هذه العمليات هو الأنجيوتنسين II (Angiotensin II)، وهو ببتيد ثماني يصنع من مولد الأنجيوتنسين (الشكل 48-5).

ويتم صنع مولد الأنجيوتنسين، $\alpha2$ –جلوبلين، في الكبد، وهو ركيزة للرينين، الذي هو إنزيم ينتج في الخلايا مجاورة الكبيبة للشرين الكلوي الوارد. وإن موضع هذه الخلايا يجعلها حساسة بشكل خاص لتغيرات ضغط الدم. ويعمل العديد من منظِّمات تحرير الرينين الفيزيولوجية من خلال مستقبلات الضغط الكلوية (الجدول 48-3). وتكون الخلايا مجاورة الكبيبة حساسة أيضاً لتغيرات تركيز Na^+ و Cl^- في السائل النبيبي الكلوي؛ لذلك فإن أي تشارك للعوامل التي تُنْقص حجم السائل (التجفاف، أو نقص ضغط الدم، أو فقدان السوائل أو الدم)، أو التي تنقص تركيز NaCl يؤدي إلى تنبيه تحرر الرينين. وتقوم الألياف الودية الكلوية التي تنتهي في الخلايا مجاورة الكبيبة بتواسط تأثيرات الجملة العصبية المركزية وضعية الجسم في تحرر الرينين بشكل مستقل عن تأثيرات مستقبلات الضغط والملح، وهي الآلية التي تتضمن مستقبلات β– أدرينالية الفعل.

يعمل الرينين على الركيزة مولّد الأنجيوتنسين لإنتاج ببتيد عشاري هو الأنجيوتنسين I. ويتعزز تخليق مولد الأنجيوتنسين في الكبد بالقشرانيات السكرية والإستروجين. وقد ينجم فرط ضغط الدم المرافق لهذه الهرمونات جزئياً عن زيادة مستويات مولد الأنجيوتنسين في البلازما. ونظراً لأن هذا البروتين يدور عند قيمة الـ K_m المناسبة لتآثره مع الرينين، فإنه يمكن للتبدلات الطفيفة أن تؤثر بشكل واضح في توليد الأنجيوتنسين II.

المنبهات	المثبطات
تناقص ضغط الدم	زيادة ضغط الدم
التحول من وضعية الاستلقاء إلى الوقوف	التحول من وضعية الوقوف إلى الاستلقاء
نفاد الملح	التزويد بالملح
العومل β– أدرينالية الفعل	الضواد β – أدرينالية الفعل
البروستاجلاندينات	مثبطات البروستاجلاندينات
	البوتاسيوم
	الڤازوبرسين
	الأنجيوتنسين II

الجدول 48-3 : العوامل التي تؤثر في تحرر الرينين.



الشكل 48-5 : تشكل الأنجيوتنسينات وأيضها. تشير الأسهم الصغيرة لمواقع الانشطار.

يقوم الإنزيم المحول للأنجيوتنسين، وهو بروتين سكري موجود في الرئة والخلايا البطانية والبلازما، بنزع حمضين أمينيين من الطرف الكربوكسيلي للببتيد العشاري «الأنجيوتنسين I» لتشكيل الأنجيوتنسين II في خطوة لا يعتقد إنها محددة للمعدل. وتعمل مضاهئات ببتيدية تساعية (من تسعة أحماض أمينية) مختلفة للأنجيوتنسين I ومركبات أخرى كمثبطات تنافسية للإنزيم المحول؛ وتستخدم في معالجة فرط ضغط الدم المعتمد على الرينين، وتعرف بمثبطات الإنزيم المحول للأنجيوتنسين (ACEs). ويقوم الإنزيم المحول أيضاً بتدرك البراديكينين، وهو موسع وعائي قوي، وبذلك فإن هذا الإنزيم يرفع ضغط الدم بطريقتين منفصلتين.

يرفع الأنجيوتنسين II ضغط الدم بإحداث تضيق وعائي في الشرينات، وهو مادة فعالة في الأوعية قوية جداً، ويثبط تحرر الرينين من الخلايا مجاورة الكبيبة كما أنه منبِّه قوي لإنتاج الألدوستيرون. ومع أن الأنجيوتنسين II ينبه الكظر مباشرة، لكن ليس له تأثير في إنتاج الكورتيزول.

يتحول الأنجيوتنسين II في بعض الأنواع، إلى الببتيد السباعي «الأنجيوتنسين III» منزوع الأسبارتات 1 (الشكل 48-5)، وهو منبه لإنتاج الألدوستيرون بالقوة نفسها. ويكون المستوى البلازمي للأنجيوتنسين II عند الإنسان أكبر بأربع مرات من مستوى الأنجيوتنسين III، لذلك فإن معظم التأثيرات يمارسها الببتيد الثماني. وتتعطل الأنجيوتنسينان II و III بسرعة بفعل إنزيمات الأنجيوتنسيناز.

يرتبط الأنجيوتنسين II بمستقبلات نوعية في الخلايا الكبيبية. ولا ينشط التآثر هرمون ـ مستقبل سيكلاز الأدينيليل، ويبدو أن الـ cAMP لا يتواسط آلية عمل هذا الهرمون. وقد تتضمن أفعال الأنجيوتنسين II، التي هي تنبيه تحويل الكوليسترول إلى البريجنينولون وتحويل الكورتيكوستيرون إلى 18–هيدروكسي كورتيكوستيرون وألدوستيرون، تبدلات في تركيز كل من الكلسيوم داخل الخلوي والمستقلبات الشحمية الفسفورية بآليات مشابهة لتلك المصوفة في (الفصل 44).

ب – البوتاسيوم: يكون إفراز الألدوستيرون حساساً للتغيرات في مستوى البوتاسيوم في البلازما، حيث أن زيادة بمقدار 0.1 ممك/ل تؤدي لتنبيه الإنتاج، في حين أن نقصاً مشابهاً يؤدي إلى انخفاض إنتاج الألدوستيرون وإفرازه. ويؤثر K^+

في الخطوات الإنزيمية نفسها مثلما يفعل الأنجيوتنسين II، مع أن الآلية المساهمة غير واضحة. ولا يؤثر الـ K^+ على غرار الأنجيوتنسين II، في التخليق الحيوي للكورتيزول.

جـ – المستفعلات الأخرى: يمكن أن يساهم كل من الـ ACTH والصوديوم، في ظروف خاصة في إنتاج الألدوستيرون عند الإنسان.

للهرمونات الستيرويدية الكظرية العديد من التأثيرات الأيضية المختلفة:

يؤدي فقدان الوظيفة القشرية الكظرية إلى الموت ما لم تبدأ المعالجة التعويضية. ويمكن القول أن معالجة قصور الكظر بالقشرانيات المعدنية ليست كافية عموماً عند الإنسان. حيث يبدو أن القشرانيات السكرية هي أكثر حسماً في هذا الأمر. وبالمقابل يكون التعويض بالقشرانيات المعدنية جيداً عند الجرذان. وتسبب المستويات البلازمية المفرطة أو المعوزة لأي صف من الهرمونات، سواء كانت ناجمة عن مرض أو عند الاستخدام العلاجي، عدداً من المضاعفات الخطيرة المتعلقة بشكل مباشر بأفعالها الأيضية.

تؤثر الهرمونات القشرانية السكرية في كل من الأيض الأساسي وبالآليات الدفاعية عند الثوي وضغط الدم والاستجابة للكرب:

توجد مناقشة مفصلة للتأثيرات الأيضية المختلفة للهرمونات القشرانية السكرية في النصوص التقليدية بالفيزيولوجيا. ويبين (الجدول 48-4) وصفاً موجزاً للتأثيرات.

التأثيرات في الأيض المتوسط:

1- زيادة إنتاج الجلوكوز: (1) بزيادة إطلاق الأحماض الأمينية (الركيزة في استحداث السكر) من الأنسجة المحيطية؛ (2) وبزيادة معدل استحداث السكر بزيادة كمية عدة إنزيمات أساسية (وفعاليتها)؛ (3) «والسماح» لتفاعلات أيضية أخرى بأن تجري بمعدلات أعظمية.

2- زيادة توضع الجليكوجين في الكبد بتحريض تنشيط سنتاز الجليكوجين.

3 - تعزيز تحلل الشحميات (في الأطراف)، لكن يمكنها أن تسبب تكون الشحميات في مواضع أخرى (الوجه والجذع) بخاصة عند مستويات أعلى من الفيزيولوجية.

4 - تعزيز أيض البروتين والرناRNA؛ وهذا تأثير ابتنائي على المستويات الفيزيولوجية، لكن يمكن أن يكون تقويضياً في بعض الظروف وعند المستويات الأعلى من الفيزيولوجية.

التأثيرات في آليات الثوي (المضيف):

1- كبت الاستجابة المناعية: حيث تسبب هذه الهرمونات انحلال اللمفاويات النوعي للأنواع والنوعي للنمط الخلوي.

2 - كبت الاستجابة الالتهابية: (1) بإنقاص عدد الكريات البيضاء في الدوران وإنقاص هجرة الكريات البيضاء النسيجية؛ (2) وبتثبيط تكاثر الأرومات الليفية؛ (3) وتحريض الليبوكورتينات، التي تقوم من خلال تثبيط الفسفو ليباز A_2 بتخفيض إنتاج الجزيئات القوية المضادة للالتهاب، أي البروستاجلاندينات واللوكوترينات.

التأثيرات الأخرى:

1 - ضرورية للحفاظ على ضغط الدم ونتاج القلب السويين.

2 - ضرورية للحفاظ على التوازن السوي للماء والكهارل، ربما بتقييد تحرر الـ ADH (H_2O) وبزيادة مولد الأنجيوتنسين (Na+). وتسهم هذه التأثيرات في التأثير في ضغط الدم.

3- ضرورية، إلى جانب هرمونات لب الكظر، للسماح باستجابة الكائن الحي للكرب.

الجدول 48-4 : التأثيرات المختلفة للقشرانيات السكرية.

تؤثر الهرمونات القشرانية المعدنية في توازن الكهارل ونقل الأيونات:

تعمل الهرمونات القشرانية المعدنية في الكلية على تنبيه النقل الفعال لـ Na^+ بوساطة النبيبات الملففة القاصية والنبيبات الجامعة، وتكون النتيجة الصافية هي احتباسNa^+ . وتعزز هذه الهرمونات أيضاً إفراز NH_4^+ و H^+ و K^+ من قبل الكلية وتؤثر في نقل الأيونات في أنسجة ظهارية أخرى منها الغدد العرقية، والمخاطية المعوية، والغدد اللعابية. ويكون الألدوستيرون أقوى بـ 30-50 مرة من 11– ديوكسي كورتيوستيرون (DOC)، وبـ 1000 مرة أقوى من الكورتيزول أو الكورتيكوستيرون. ونظراً لأنه القشراني المعدني الأقوى الموجود في الطبيعة، لذلك يكون الألدوستيرون مسؤولاً عن معظم هذا الفعل عند الإنسان. ويتمتع الكورتيزول، رغم أنه أقل قوة بكثير، بمعدل إنتاج أكبر بكثير لذلك فإن له تأثير مهم في احتباس Na^+ وإفراغ K^+. وبما ان كمية الـ DOC المُنتَجة تكون قليلة جداً، لذلك فهو يكون أقل أهمية في هذا الأمر.

إن تخليق الرنا RNA والبروتينات ضروري لفعل الألدوستيرون، الذي يبدو أنه يتضمن إنتاج نواتج جينية نوعية (انظر لاحقاً).

ترتبط الهرمونات الستيرويدية الكظرية بمستقبلات داخل الخلايا:

تستهل الهرمونات القشرانية السكرية فعلها في أي خلية هدفية من خلال التآثر مع مستقبل نوعي. وتكون هذه الخطوة ضرورية للدخول إلى النواة والارتباط بالدنا DNA. وتوجد بشكل عام علاقة كبيرة بين ارتباط الستيرويد بالمستقبل وإحداث استجابة بيولوجية معينة. وتكون هذه العلاقة صحيحة بالنسبة لمجال واسع من الفعاليات، بحيث أن الستيرويد الذي له عشر ألفة الارتباط يثير وبشكل موافق تأثيراً بيولوجياً ناقصاً عند تركيز معين للستيرويد.

يعتمد التأثير البيولوجي لأي ستيرويد على كل من قدرته على الارتباط بالمستقبل وتركيز الهرمون الحر في البلازما. ويرتبط كل من الكورتيزول والكورتيكوستيرون

والألدوستيرون كلها بألفة عالية بمستقبل القشراني السكري، لكن يكون الكورتيزول في الظروف الفيزيولوجية هو القشراني السكري السائد بسبب تركيزه الأكبر من غيره بكثير في البلازما. ويعد الكورتيكوستيرون قشرانياً سكرياً مهماً في بعض الحالات المرضية (عوز 17α– هيدروكسيلاز)، لكن لا يصل الألدوستيرون أبداً إلى تركيز كاف في البلازما لكي يظهر تأثيرات القشرانيات السكرية.

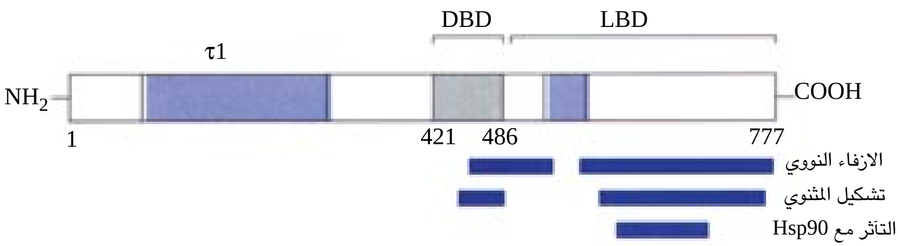
لقد جرى تحديد المناطق الوظيفية في مستقبل القشراني السكري:

قادت عدة دراسات كيميائية حيوية ومناعية ووراثية إلى صياغة مستقبلة القشراني السكري الموضحة في (الشكل 48-6). حيث يحوي النصف ذو النهاية الأمينية معظم المقرَّات المستضدية. وفيه منطقة تعدل وظيفة المعزاز (التنشيط المفروق). وقد كانت هذه المنطقة تعرف أولاً بـ τ1، لكن يشار إليها الآن بشكل أكثر شيوعاً كوظيفة للتنشيط 1 (AF-1).

أما النصف ذو النهاية الكربوكسيلية فيحوي مناطق ارتباط بالدنا DNA وبالهرمون، ومنطقة ثانية للتنشيط العابر (المفروق) أي τ2، الذي يشار إليها الآن بشكل أكثر شوعاً كوظيفة للتنشيط 2 (AF-2). وتكون AF-2 منشطاً مفروقاً معتمداً على اللجين، في حين لا يكون AF-1 معتمداً على اللجين. وتكون منطقة ارتباط الدنا (DNA) أقرب إلى مركز الجزيء، في حين تكون المنطقة الرابطة للهرمون قريبة من الطرف الكربوكسيلي. وتكون كلتا هاتين المنطقتين ضروريتين للتنشيط المفروق للانتساخ الجيني.

وهناك تسلسل من الأحماض الأمينية في المنطقة الطرفية الكربوكسيلية يكون ضرورياً للتشكل المثنوي لجزيئين من المستقبلات، وهو تفاعل ضروري للارتباط بكل من مقري الارتباط «النصفية» في عنصر الاستجابة للقشراني السكري (GRE)، (انظر للأسهم في الجدول 44-3). ويبدو أنه من الضروري وجود منطقتين منفصلتين من أجل دخول المستقبل إلى النواة (التوضع النووي).

هناك تسلسل من الأحماض الأمينية في المستقبل، تم تحديده بتحليل جزيئات cDNA الموافقة، يتكشف عن منطقتين فيهما وفرة من ثمالات سيستيين ـ ليزين ـ أرجينين في منطقة ارتباط الدنا DNA. وبمقارنة هذه المناطق مع بروتينات أخرى معروفة رابطة للدنا DNA (بخاصة عامل الانتساخ IIIA [TFIIIA])، فإنه من الممكن افتراض بنية بروتينية تمتلك إصبعين (بكل منهما ذرة زنك مرتبطة في مركز الإصبع) يرتبطان بلفة من الدنا DNA. وقد تم التأكد من ذلك بشكل مباشر الآن، ويعد نموذج إصبع الزنك أحد أشكال التآثر بين البروتين و الدنا DNA والذي جرت مناقشته في (الفصل 14).



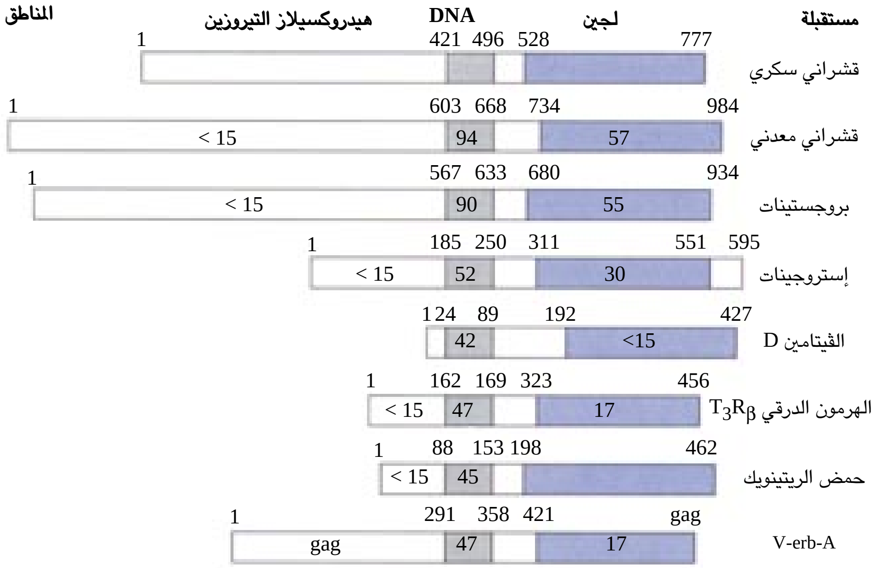
الشكل 48-6 : تمثيل تخطيطي لمستقبل القشرانيات السكرية المكون من 777 حمضاً أمينياً عند الإنسان. يظهر الحمض الأميني في النهاية -NH_2 كرقم 1، وتتوضع منطقة ارتباط الـ DNA (DBD) بين الأحماض الأمينية 421 و 486، ويكون رقم الحمض الأميني في النهاية الكربوكسيلية هو 777. يتألف المستقبل من عدة مناطق، وقد أظهرت الحدود التقريبية لكل منها في الشكل. ويمتلك كافة أعضاء هذه الفصيلة من المستقبلات مناطق: لارتباط اللجين، وللتنشيط المفروق (Tau1 و Tau2 في GR)، ولارتباط الدنا DNA، وقد تمتلك مناطق للتشكيل المثنوي. ويتفارق GR عن hsp90 عندما يرتبط اللجين، ثم يتحرك من العصارة الخلوية إلى النواة. وتظهر في الشكل أيضاً المناطق الضرورية في المستقبل من أجل إنجاز هذه الوظائف.

فصيلة مستقبلات الهرمونات الستيرويدية ـ الدرقية الكبيرة:

تنظِّم الهرمونات الستيرويدية والدرقية أنواعا مختلفة من العمليات المساهمة في التطور والتمايز والنمو والتوالد والتلاؤم مع التغيرات البيئية. وقد أصبح من الواضح، في السنوات الأخيرة، أن وجود آلية عامة يمكن أن يُفسِّر كيف تعمل هذه الهرمونات على المستوى الجزيئي (الفصل 44). حيث يكون المكون الأساسي في هذه الآلية هو المستقبل الهرموني. وتكون هذه الجزيئات غير وفير لذلك فقد احتاج التحليل البنيوي عزل نسائل cDNA لكل منها.

وكانت أول البنى التي جرى تحديدها هي تلك الخاصة بمستقبلات القشرانيات السكرية والإستروجين والبروجستيرون. وقد قاد التماثل في مناطق الدنا DNA لهذه المستقبلات والتشابه الدقيق لكل منها مع V-erb-A، وهو بروتين جيني ورمي رابط للدنا (DNA)، قاد إلى الافتراض بأن هذه المستقبلات قد تنتمي إلى فصيلة جينية كبيرة. وإذا كان الأمر كذلك، فإن الفرضية المناسبة لذلك هي أنه ينبغي عزل مستقبلات أخرى من مكتبات cDNA باستخدام مسابر موجهة ضد المنطقة المشتركة (منطقة الدنا DNA) عند شروط التهجين المختزل الصارم (الفصل 42).

وقد تم التثبت من صحة هذه الفرضية. فكما هو موضح في (الشكل 48-7)، جرى استنتاج بنى كافة المستقبلات الستيرويدية، إلى جانب تلك الخاصة بالبروتينات العديدة الرابطة للدنا (DNA) التي لم يجر تحديد لجينها بعد. وتسمى بالمستقبلات اليتيمة. ويكون التماثل بين مناطق ارتباط الدنا (DNA) في هذه المستقبلات واضحاً، ويكون التعضي العام لكل منها هو نفسه. وهناك تباين ملحوظ في الطول الإجمالي للمستقبلات، يكون معظمه ناجماً عن النصف ذي النهاية الأمينية من الجزيء، وقد عجلت هذه الملاحظة كثيراً في فهم كيف يقوم هذا الصنف من الهرمونات بتنظيم الانتساخ الجيني.



الشكل 48-7 : مقارنة تخطيطية لطائفة مستقبلات الهرمونات الستيرويدية ـ الدرقية. جرى ترتيب تسلسل المستقبلات عند الإنسان (حيث V-erb-Aهو عند الطيور) بحسب مناطقها الرابطة للدنا (DNA)، والتي تبدي التشابه الكبير في الأحماض الأمينية (الأرقام ضمن المستطيلات هي النسبة المئوية للتشابه مع المنطقة الموافقة من مستقبلة القشراني السكري). أما الأرقام الواقعة فوق الخطوط العمودية التي تفصل بين المناطق فهي تبين مواضع الأحماض الأمينية. وتم الإشارة للموضع الطرفي الأميني بالرقم 1. وقد تم عزل العديد من الجزيئات المشابهة الأخرى، لكن لم تحدد بعد لجائن هذه الجزيئات ووظائفها.

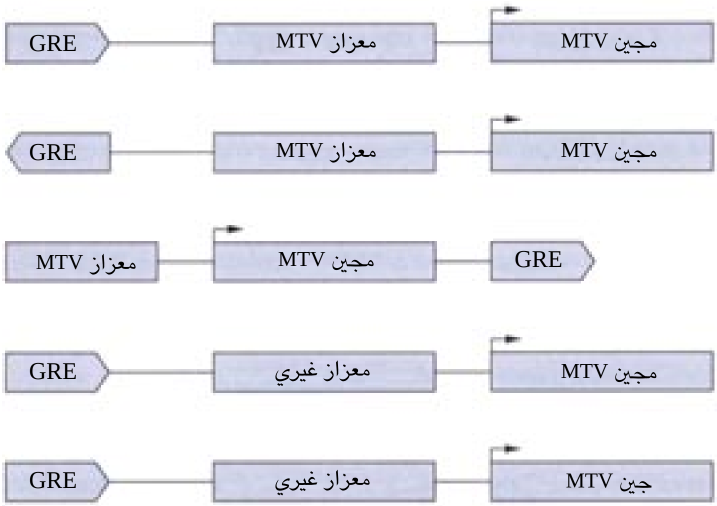
تنظم الهرمونات القشرانية السكرية التعبير الجيني:

لقد نوقشت الملامح العامة لآلية عمل الهرمونات القشرانية السكرية في (الفصل 44)، وهي موضحة في (الشكل 44-1). وهناك العديد من الأمثلة التي تدعم المفهوم القائل بأن هذا الصف من الهرمونات يؤثر في عمليات خلوية نوعية من خلال التأثير في كمية بروتينات مهمة ضمن الخلية، هي إنزيمات عادة. وتحقق القشرانيات

السكرية هذا عادة من خلال تنظيم معدل انتساخ جينات معينة في الخلية الهدف، لكنها تؤثر أيضاً في خطوات أخرى في «تدفق المعلومات» (انظر الشكل 44-2). ويحتاج تنظيم الانتساخ لأن يرتبط معقد ستيرويد ـ مستقبل بمناطق نوعية من الدنا (DNA) في جوار مقر ابتداء الانتساخ ولأن تقوم هذه المناطق بإعطاء الصفة النوعية للاستجابة. أما كيف يقوم هذا التآثر بتعزيز أو تثبيط الانتساخ فعلياً، وكيف تتحقق النوعية النسيجية، وكيف يجري تنبيه جين معين في نسيج ما ويثبَّط في نسيج آخر، فهي من الأسئلة القليلة المهمة التي ما تزال بلا إجابة.

إن الوصف الموجز عن كيف تقوم الهرمونات القشرانية السكرية بالتأثير في انتساخ دنا DNA ڤيروس ورم الثدي عند الفأر يوفر إيضاحاً جيداً لما هو معروف عن آلية عمل الهرمون الستيرويدي. وقد تبين أن جملة ڤيروس ورم الثدي مفيدة لأن التأثير الستيرويدي يكون سريعاً وكبيراً ولأن البيولوجيا الجزيئية للڤيروس قد درست بشكل جيد بفضل ذلك.

ويقوم معقد المستقبلة والهرمون القشراني السكري بالارتباط بمنطقة عنصر الاستجابة للقشراني السكري (GRE) وذلك بانتقائية ونوعية كبيرتين، حيث تبعد هذه المنطقة بضع مئات من أزواج الأسس أعلى مقر ابتداء الانتساخ. وتوجد ضمن الـ GRE تسلسلات شبيهة جداً بالتسلسل الاتفاقي GGTACANNNTGTTCT الموجود في العناصر التنظيمية لمعظم الجينات المنظَّمة بالقشرانيات السكرية. ويعزز عنصر الاستجابة للقشراني السكري المحمول بالمستقبل ابتداء الانتساخ لجين ڤيروس ورم الثدي عند الفأر وينشِّط أيضاً المعازيز الغيرية. ويعمل عنصر الفعل المقرون هذا أيضا عندما يحرك إلى مناطق مختلفة أعلى المجرى وأسفله، وهو يعمل إما بالاتجاه المقبل (للأمام) أو الراجع (للخلف). لذلك يستحق عنصر الاستجابة للقشراني السكري في هذا الشأن اسم مُعزز الانتساخ. وقد أمكن إظهار هذه الملامح بوضوح أيضاً في عدة جينات أخرى يجري تنظيمها بالقشرانيات السكرية، وهي مبينة في (الشكل 48-8).



الشكل 48-8 : إن عنصر الاستجابة للقشرانيات السكرية (GRE) هو مُعزِّز للانتساخ. يحوي ڤيروس ورم الثدي من النمط المتطرف (MTV) منطقة من (DNA) يجري نسخها إلى وحدة الانتساخ (المجين MTV)، أي المعزاز، ولـ GRE. ويتوضع الـ GRE في الحالة السوية ضمن الأزواج 5´ 200bp من مقر ابتداء الانتساخ، لكنه يعمل في كلا الاتجاهين وقد يتوضع أسفل المجرى بدءاً من مقر ابتداء الانتساخ. وهو يعمل أيضاً على معازيز غيرية ووحدات الترميز. وتعني هذه الملاحظات أن هذا الـ GRE، وغيره من العناصر المعزولة من جينات مختلفة، تعمل كمعززات (محرضات) للانتساخ. وغالباً ما يعمل الـ GRE بالاقتران مع عناصر الدنا (DNA) وبروتينات مرافقة من أجل تعديل (زيادة أو نقصان) الانتساخ. ويطلق على هذه المجموعة من عناصر الدنا (DNA)، بما فيها الـ GRE، تسمية وحدات الاستجابة للقشرانيات السكرية.

وتحتاج معظم الجينات عند الثدييات والتي يتم تنظيمها بالقشرانيات السكرية، والعناصر الأخرى من فصيلة الهرمونات الستيرويدية والدرقية والريتينويدية تحتاج إلى بروتينات إضافية لارتباط الدنا (DNA)، ولعناصر الدنا (DNA) المشابهة وذلك لتنشيط الانتساخ بشكل كامل. وتعرف هذه المعقدات باسم وحدات الاستجابة للهرمون (HRUs). ويبدو أن HRU تواجه جهاز الانتساخ الأساسي من خلال عدة

جزيئات منظمة مشاركة. وقد نوقش هذا بمزيد من التفصيل في (الفصل 44)، وتم توضيحه في (الشكل 44-5).

لقد أصبح واضحاً في الآونة الأخيرة أن بعض أفعال القشرانيات السكرية قد لا تتضمن تآثراً مباشراً بين المستقبل والـ GRE. وهناك دليل على أن المستقبلة تستطيع تواسط تأثيرات القشرانيات السكرية بتشكيل تآثر بروتين/بروتين مع بروتين آخر رابط للدنا DNA. ويبدو أن التحكم بمعدل الانتساخ الجيني هو الفعل الرئيسي للهرمونات القشرانية السكرية، لكنه ليس الآلية الوحيدة المستعملة.

فلقد أظهرت إمكانية قياس العمليات النوعية أن هذه الهرمونات تنظِّم أيضاً معدل تدرك جزيئات mRNA معينة (مثل تلك لـ هرمون النمو وكربوكسي كيناز فسفوإينول البيروفات)، وتنظم كذلك المعالجة بعد الترجمة (بروتينات مختلفة لفيروس ورم الثدي). ويبدو أن هذه الهرمونات وصفوف أخرى من الهرمونات الستيرويدية قادرة على العمل عند أي مستوى من تدفق المعلومات من الدنا DNA إلى البروتين (الشكل 44-2). وتختلف الأهمية النسبية لكل منها من جملة إلى جملة.

إن الملامح العريضة لفعل الهرمونات القشرانية المعدنية (الألدوستيرون) تشابه تلك التي للهرمونات الستيرويدية الأخرى:

(الأشكال 44-1 و 44-2 و 44-3 والجدول 44-3). على الرغم من أنه لم تعزل نواتج جينية نوعية، لكنه من المعروف أن تخليق البروتينات والرنا RNA ضروري لفعل الألدوستيرون، ويفترض أن هذه البروتينات النوعية تشارك في تواسط تأثيرات الألدوستيرون في نقل الأيونات.

توجد المستقبلات التي تربط الألدوستيرون بألفة عالية (K_d نحو 1 نانومول/ل) في هيولى الخلايا الهدف ونواها:

توجد هذه الخلايا في الكلية والغدة النكفيَّة والقولون وأعضاء أخرى لا يعتقد

أنها أهداف لفعل الألدوستيرون (الحُصَيْن والقلب). ولهذه المستقبلات ألفة متساوية لكل من الألدوستيرون والكورتيزول والكورتيكوستيرون، وتدعى مستقبلات النمط I لتمييزها عن مستقبل القشراني السكري التقليدي (النمط II).

إذا أخذنا الحقيقة القائلة: إن المستوى البلازمي للألدوستيرون يكون أخفض بكثير من ذلك الذي لأي من الستيرويدين الآخرين، فإنه يمكن الافتراض بأن هذه الهرمونات تفضل الارتباط بمقرات النمط الأول، وأن الألدوستيرون يبدي تأثيراً قليلاً. ولنتذكر أن DOC والكورتيكوستيرون يرتبطان بشكل شره بالجلوبلين الرابط للستيرويدات القشرية، وهو البروتين الذي ينقل القشرانيات السكرية في البلازما، في حين لا يوجد للألدوستيرون بروتين حامل نوعي. ونتيجة لذلك، يكون التركيز «الحر» الفعال للألدوستيرون في البلازما أكبر من تركيز الكورتيكوستيرون أوالـ DOC. لذلك يكون الألدوستيرون قادراً على الدخول بسهولة إلى الخلايا، وهذا يكفل الأفضلية التنافسية للألدوستيرون فيما يتعلق بالارتباط بمستقبل النمط I في الأحياء. ويؤكد الفعل المهم للألدوستيرون من خلال آلية إضافية، هي أنه عندما يتعطل أحد أنماط المستقبلات يعمل النمط الآخر، ويكون للمستقبل في الأنسجة التي تستهدفها القشرانيات المعدنية انتقائية مطلقة للألدوستيرون، بسبب وجود إنزيم نازعة هيدروجين II - β هيدروكسي ستيرويد. حيث يحول هذا الإنزيم الكورتيزول والكورتيكوستيرون إلى متأيضاتها βII ، لكنه لا يكون فعالاً على الألدوستيرون. ولا تستطيع هذه المتأيضات الارتباط بمستقبلة النمط I لذلك يتمتع الألدوستيرون بحرية الوصول أو الدخول دون وجود معوقات.

تكون الأفعال الرئيسية للألدوستيرون هي نقل الأيونات:

لم تتوضح الآليات الجزيئية لعمل الألدوستيرون في نقل الـ Na^+، لكن تشير الدراسات العديدة إلى الفرضية التالية:

يدخل الصوديوم من السائل التجويف (السائل الموجود في التجويف) الذي

يغمر السطح القمي للخلية الكلوية بشكل منفعل (سلبي) خلال قنوات الـ Na^+. ثم ينقل Na^+، إلى السائل الخلالي من خلال الجانب المصلي للخلية بوساطة مضخة ATPase معتمدة على Na^+ وK^+. ويوفر الـ ATP الطاقة اللازمة لهذه العملية النشيطة.

يقوم الألدوستيرون بزيادة عدد قنوات Na^+ في الغشاء القمي، ويفترض بأن هذا يزيد الـ Na^+ داخل الخلوي. ويزيد الألدوستيرون فعالية عدة إنزيمات متقدرية، وهذا يمكن أن يؤدي إلى توليد الـ ATP اللازم لتفعيل عمل مضخة Na^+ - K^+ في الغشاء المصلي. وتزداد نسبة الـ NADH إلى NADH:NAD NAD نتيجة لفعل الألدوستيرون، تماماً مثلما تفعل فعاليات عدة إنزيمات متقدرية بما في ذلك سنتاز السيترات. حيث يتضمن ازدياد فعالية سنتاز السيترات تحريضاً حقيقياً (الذي ربما تتواسطه تأثيرات الانتساخ الجيني المشار إليها سابقاً)، وترتبط الزيادة المؤقتة لهذا البروتين بشكل قوي مع تأثير الألدوستيرون في نقل الـ Na^+. ولم يتبين ما إذا كان للألدوستيرون تأثير في مضخة الـ Na^+ بحد ذاتها، لذلك يبدو أن الهرمون يزيد تركيز Na^+ داخل الخلوي ويخلق مصدر الطاقة اللازمة لإزالة هذا الأيون من خلال المضخة المصلية. وقد تسهم آليات أخرى، تتضمن بروتينات مختلفة منظَّمة بالألدوستيرون، في التعامل مع H^+ و K^+.

الفيزيولوجيا المرضية لقشر الكظر:

اضطرابات قصور الهرمونات القشرانية السكرية وفرطها:

يؤدي قصور الكظر الاولي (داء أديسون Addison’s Disease) إلى نقص سكر الدم وحساسية مفرطة للإنسولين، وعدم تحمل الكرب، والقهم، ونقص الوزن، والغثيان والضعف الشديد. ويكون لدى المرضى بداء أديسون ضغط دم منخفض وانخفاض في سرعة الترشيح الكبيبي، وتناقص القدرة على إفراغ الماء. وغالباً ما تكون لديهم حاجة ملحة للملح. وتكون مستويات Na^+ البلازمية منخفضة، أما مستويات K^+، فهي مرتفعة، ويزداد تعداد اللمفاويات واليوزينيات في الدم. ويظهر هؤلاء المرضى غالباً ازدياداً في تصبغ الجلد والأغشية المخاطية بسبب الإفراز

المعاوض المبالغ فيه للـ ACTH والنواتج المرافقة لجين طليعة الكورتين الميلاني الأفيوني (POMC).

وينتج قصور الكظر الثانوي عن عوز في الـ ACTH الناجم عن ورم أو احتشاء أو عدوى، وهذا يؤدي إلى متلازمة أيضية مشابهة من دون فرط التصبغ.

ينجم فرط القشرانيات السكرية عادة، الذي يسمى عموماً بمتلازمة كوشينج (Cushing's S.)، عن الاستخدام الدوائي للستيرويدات، غير أنه يمكن أن ينجم عن ورم غدي نخامي مفرز للـ ACTH، أو عن أورام غدية أو سرطانات كظرية، أو عن الإنتاج المنتبذ لـ ACTH من ورم ما. ويفقد مرضى متلازمة كوشينج إلى حد نموذجي النظم اليوماوي لإفراز الـ ACTH والكورتيزول. كما يكون لديهم فرط بسكر الدم أو عدم تحمُّل الجوكوز (أو كليهما) بسبب استحداث السكر المتسارع. وإن ما يرتبط مع هذه التبدلات هو تأثيرات تقويضية شديدة للبروتينات، والتي تؤدي إلى ترقق الجلد، والضمور العضلي، وتخلخل العظام، والأَوْب (الانكماش) الواسع في النسيج اللمفاوي، وبشكل عام إلى توازن نتروجيني سلبي. كما يحدث عند المريض إعادة توزع مميزة للدهون، مع سمنة جذعية وظهور «سنام الجاموس» (Buffalo Hump) النموذجي. وتضعف مقاومة العداوى والاستجابات الالتهابية، كما هو الحال في الشفاء من الجروح. وتنجم العديد من الموجودات، بما في ذلك فرط صوديوم الدم، ونقص بوتاسيوم الدم، والقلاء، والوذمة، وفرط ضغط الدم، عن الأفعال القشرانية المعدنية للكورتيزول.

اضطرابات فرط القشرانيات المعدنية:

تؤدي الأورام الغدية الصغيرة في خلايا الطبقة الكبيبية إلى الألدوستيرونية الأولية (Primary Aldosteronism) (متلازمة كون Conn's Syndrome)، التي تتضمن تظاهراتها التقليدية، فرط ضغط الدم، ونقص بوتاسيوم الدم، وفرط صوديوم الدم، والقلاء. ولا يكون عند المرضى بالألدوستيرونية الأولية ما يشير إلى وجود فرط في الهرمونات القشرانية السكرية، وتكون مستويات الرينين والأنجيوتنسين II في البلازما مكبوتة.

يمكن أن يؤدي تضيق الشريان الكلوي، مع ما يتبعه من نقص في ضغط التروية، إلى فرط أنسجة الخلايا مجاورة الكبيبة وفرط وظيفتها، وهذا يسبب ارتفاع مستويات الرينين والأنجيوتنسين II. ويؤدي هذا الفعل إلى الألدوستيرونية الثانوية، التي تماثل الشكل الأولي فيما عدا ارتفاع مستويات الرينين والأنجيوتنسين II.

ينتج فرط التنسج الكظري الولادي عن عوز إنزيمي:

تؤدي الكميات غير الكافية من إنزيمات تكون الستيرويدات إلى عوز في النواتج النهائية، ولتراكم المتوسطات، وإنتاج الستيرويدات بكميات ضخمة من سُبُل بديلة. والمظهر المشترك لمعظم هذه المتلازمات، والذي يظهر في الرحم هو تناقص إنتاج الكورتيزول مع فرط إنتاج الـ ACTH وفرط التنسج الكظري. ومن هنا اتى مصطلح فرط التأنسجة الكظري الولادي (Congenital Adrenal Hyperplasia). كما أن فرط إنتاج الأندروجينات الكظرية هو مظهر مشترك آخر أيضاً. ويؤدي هذا الفرط الهرموني إلى زيادة نمو الجسم، والاسترجال، وظهور أعضاء تناسلية خارجية مبهمة. ومن هنا جاء المصطلح البديل «المتلازمة الكظرية التناسلية» (Adrenogenital syndrome).

هناك نمطان من عوز 12–هيدروكسيلاز (استرجال جزئي أو بسيط وكامل وتبديد ملحي) مسؤولان عن أكثر من 90٪ من حالات فرط التنسج الكظري الولادي، أما معظم الحالات الباقية فتنجم عن عوز β11– هيدروكسيلاز. وقد وصفت بضع حالات عوز أخرى فقط (نازعة هيدروجين β18 – هيدروكسي ستيرويد، و 17 α – هيدروكسيلاز، وديسمولاز الكوليسترول، و 18–هيدروكسيلاز، ونازعة الهيدروجين –18).حيث يؤثر عوز كل من 18– هيدروكسيلاز ونازعة الهيدروجين– 18 فقط في التخليق الحيوي للألدوستيرون لذلك لا تسبب فرط تنسج الكظري. أما عوز ديسمولاز الكوليسترول فهو يمنع أي تخليق حيوي للستيرويدات لذلك فمن المتعذر عادة الاستمرار مع هذه الحالة في الحياة خارج الرحم. وينجم هذا العيب فعلياً عن طفرات في الـ STAR والتي تمنع نقل الكوليسترول إلى P450scc.

الخلاصة:

يوجد في قشر الكظر إنزيمات تحول الكوليسترول إلى العشرات من جزيئات الستيرويد المختلفة. ومن بينها هناك ثلاث صفوف لها فعالية هرمونية:

1- القشرانيات السكرية؛ و2 – القشرانيات المعدنية؛ و3 – الأندروجينات. وتتشارك جميع هذه الهرمونات بالبنية الأساسية ذات الـ 17 كربون وهي «السيكلوبنتانوبير هيدروفينانثرين»، التي تتألف من 4 حلقات يشار لها بالأحرف من A إلى D. وبإضافة ذرات كربون أخرى تتشكل الأندروجينات C_{19} والقشرانيات السكرية والقشرانيات المعدنية C_{21}.

إن القشراني السكري الرئيسي الذي يُصنع في قشر الكظر عند الإنسان هو الكورتيزول. ويُنظم إنتاج الكورتيزول بعروة ارتجاعية سلبية مكونة من CRH (الوطاء) و ACTH (النخامية الأمامية). حيث يحفِّز الـ ACTH إنشطار السلسلة الجانبية من الكوليسترول التي هي خطوة محددة للمعدل في تكون الستيرويدات بالكظر. وتتضمن التأثيرات المتعددة للكورتيزول تلك في الأيض المتوسط وكبت آليات الدفاع لدى الثوي، وهي تسهم بشكل حاسم في الاستجابة للكرب. وتكون تأثيرات الكورتيزول متواسطة بتآثره مع مستقبل نوعي متوضع في الخلايا الهدف. ويرتبط معقد مستقبل ـ لجين بمناطق نوعية من الدنا (DNA)، تسمى عناصر الاستجابة للقشرانيات السكرية (GREs)، لتؤثر في معدل انتساخ جينات معينة.

وفي معظم الجينات، يشكل اشتراك الـ GRE وعناصر دنا (DNA) أخرى وحدات الاستجابة الهرمونية (HRUs) التي تؤمن الاستجابة الكاملة للهرمون. وتتواسط التغيرات الناتجة في معدل تخليق بروتينات معينة معظم تأثيرات الهرمون.

يجري تخليق الألدوستيرون، وهو أقوى قشراني معدني، في المنطقة الكبيبية من قشر الكظر. وينتج هذا الهرمون استجابة للتغيرات في المستويات البلازمية لـ K^+ والأنجيوتنسين II. ويعد الألدوستيرون، الذي يعمل أيضاً عن طريق تنظيم التعبير الجيني من خلال آلية تتواسطها المستقبلات، الهرمون الرئيسي المسؤول عن احتباس Na^+ من قبل الكلية.

تلعب الهرمونات الكظرية دوراً أساسياً في استتباب الجلوكوز، واحتباس الصوديوم، وتنظيم ضغط الدم، وآليات دفاع الثوي، والاستجابة للكرب، والابتناء البروتيني العام. لذلك يكون غياب وظيفة الغدة الكظرية حالة مهددة للحياة عند الإنسان.

*** References:**

Beato M et al: Steroid hormone receptors: Many actors in search of a plot. *Cell* 1995 ;83:851.

Dallman MF: Stress update: Adaptation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to chronic stress. *Trends Endocrinol Metab* 1993;4:62.

Evans R: The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* 1988;240:889.

Freedman LP: Anatomy of the steroid receptor zinc finger region. *Endocr Rev* 1992;13:129.

Funder JW: Target tissue specificity of mineralocorticoids. Trends Endocr *Metab* 1990; 1:145.

Granner DK, Stromstedt P-E: Glucocorticoid hormone action. In: *Therapeutic Immunology*. Austen KF et al (editors). Blackwell, 1995.

Lucas PC, Granner DK: Hormone response domains in gene transcription. *Annu Rev Biochem* 1992;61:1131.

Pearce D, Yamamoto KR: Mineralocorticoid and glucocorticoid receptor activities distinguished by nonreceptor factors at a composite response element. Science 1993;259:1161.

Reichardt HM et al: DNA binding of the glucocorticoid receptor is not essential for survival. *Cell* 1998;93:531.

Truss M, Beato M: Steroid hormone receptors: Interaction with deoxyribonucleic acid and transcription factors. *Endocr Rev* 1993;14:459.

الفصل التاسع والأربعون

هرمونات لب الكظر

Hormones of the Adrenal Medulla

الاختصارات المستخدمة في هذا الفصل

ناقلة O – ميثيل الكاتيكول	COMT
B – هيدروكسيلاز الدوبامين	DBH
أكسيداز أحاديات الدوبامين	MAO
فينيل إيثانولامين –N– ميثيل ترانسفيراز	PNMT
حمض الڤانيليل مانديليك	VMA

مقدمة:

تتألف الجملة الودية الكظرية من كل مما يلي: الجملة العصبية اللاودية مع أعصاب كولينية الفعل قبل وبعد عقدية، والجملة العصبية الودية مع أعصاب كولينية الفعل قبل عقدية وأعصاب أدرينالية الفعل بعد عقدية ولب الكظر. ويعد هذا الأخير في الواقع امتداداً للجملة العصبية الودية، لأن الألياف قبل العقدية من العصب الحشوي تنتهي في لب الكظر، حيث تعصب الخلايا الأليفة للكروم، التي تنتج هرمونات الكاتيكولامينات: الدوبامين والنورإبينفرين والإبينفرين. وبذلك يعد لب الكظر عقدة متخصصة من دون امتدادات محوارية، وتقوم خلاياه الأليفة للكروم بتخليق النواتج وتخزينها وإطلاقها، والتي تعمل على مواضع بعيدة، بحيث أنها تقوم أيضاً بوظيفة عضو صماوي، وقد جرت في (الفصل 44) الإشارة إلى التوضيح الجيد للتداخل بين الجملتين العصبية والصماوية.

الأهمية الطبية البيولوجية:

على الرغم من أن هرمونات الجملة الودية الكظرية غير ضرورية للحياة، إلا أنها أساسية للتلاؤم مع الكروب الحادة والمزمنة. ويكون كل من الإبينفرين والنورإبينفرين والدوبامين هي العناصر الرئيسية في الاستجابة للكروب الشديدة. وتتضمن هذه الاستجابة تعديلاً حاداً متكاملاً للعديد من العمليات المعقدة في الأعضاء المهمة حيوياً للاستجابة (الدماغ، والعضلات، والجملة القلبية الرئوية والكبد) وذلك على حساب أعضاء أخرى تكون مشاركتها متأخرة أكثر (الجلد، الجهاز المعدي المعوي، والنسيج اللمفاوي). ولا تسهل الكاتيكولامينات لوحدها الاستجابة للكرب بل تساعدها في ذلك القشرانيات السكرية وهرمون النمو والڤازوبريسين والأنجيوتنسين II والجلوكاكون.

إن هرمونات الكاتيكولامينات هي 3، 4 ـ ثنائي هيدروكسي الفينيل إيثيلامين:

يتم تخليق هذه الأمينات ـ الدوبامين والنورإبينفرين والإبينفرين ـ في الخلايا الأليفة للكروم في لب الكظر، وقد سميت كذلك لأنها تحوي حبيبات تظهر بلون أحمر بني عندما تعرض إلى ثنائي كرومات البوتاسيوم. وتوجد مجموعات من هذه الخلايا أيضاً في القلب والكبد والكلية والغدد التناسلية والعصبونات الأدرينالية الفعل للجملة الودية بعد العقدية، وفي الجملة العصبية المركزية.

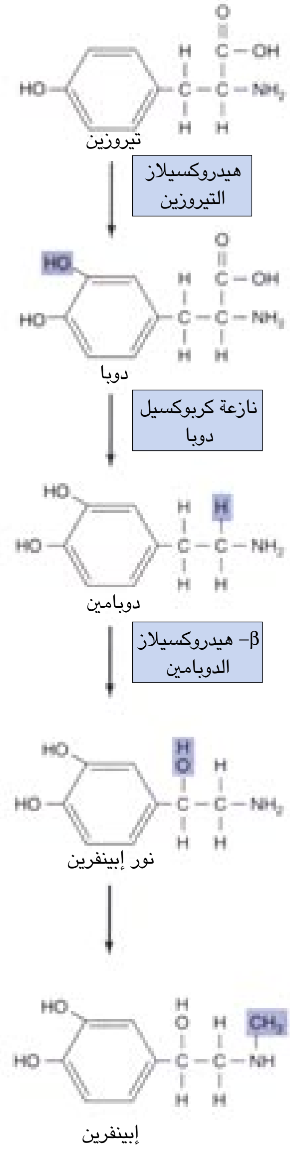
يعد الإبينفرين الناتج الرئيسي للب الكظر. ويشكل هذا المركب نحو 80٪ من الكاتيكولامينات في اللب، لا يصنع في أنسجة أخرى غير لب الكظر. وبالمقابل، يتم صنع معظم النورإبينفرين الموجود في الأعضاء المُعَصبة بأعصاب ودية في موضعه (80٪ تقريباً من الإجمالي)، ويتم صنع معظم الباقي في نهايات عصبية أخرى ويصل للمواضع الهدفية عن طريق الدوران. وقد ينتج كل من الإبينفرين والنورإبينفرين ويخزنان في خلايا مختلفة في لب الكظر والأنسجة الأخرى الأليفة للكروم.

يحتاج تحول التيروزين إلى إبينفرين إلى 4 خطوات متعاقبة: (1) هدرلة الحلقة (2) ونزع الكربوكسيل؛ (3) وهدرلة السلسلة الجانبية، و (4) المثيلة – N. ويوضح (الشكل 49-1) سبيل التخليق الحيوي والإنزيمات المساهمة، كما يبين (الشكل 49-2) تمثيلاً تخطيطياً لذلك.

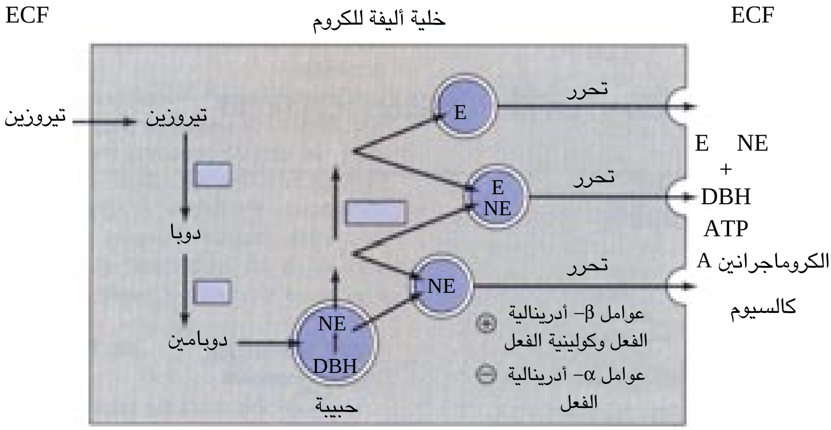
إن هيدروكسيلاز التيروزين هو المحدِّد لمعدل التخليق الحيوي للكاتيكولامينات:

يعد التيروزين طليعة مباشرة للكاتيكولامينات، وتكون هيدروكسيلاز التيروزين الإنزيم المحدد لمعدل التخليق الحيوي للكاتيكولامينات. ويوجد هيدروكسيلاز التيروزين بشكلين، ذواب ومرتبط بالجسيم وفقط في الأنسجة التي تخلق الكاتيكولامينات؛ ويقوم بوظيفة رباعي هيدرو البتيريدين كتميم عامل، لتحويل L – تيروزين إلى L– ثنائي هيدروكسي الفينيل ألانين (L– دوبا، L-Dopa). وحيث إنه إنزيم محدد للمعدل، فإن هيدروكسيلاز التيروزين يكون خاضعاً للتنظيم بطرق مختلفة. وتتضمن أكثر الآليات أهمية التثبيط بالارتجاع بوساطة الكاتيكولامينات، التي تتنافس مع الإنزيم على تميم العامل البتريدين بتشكيل أساس شيف مع الأخير ويتثبط هيدروكسيلاز التيروزين أيضاً بشكل تنافسي بسلسلة من مشتقات التيروزين، ومنها α – ميثيل التيروزين. حيث يستخدم هذا المركب أحياناً لمعالجة فرط الكاتيكولامينات في ورم القواتم. لكن تكون العوامل الأخرى بالمقابل أكثر فعالية ولها تأثيرات جانبية أقل. وهناك مجموعة ثالثة من المركبات تثبط هيدروكسيلاز التيروزين باستخلاب الحديد، وبذلك فهي تنزع تميم العامل المتوافر. وكمثال على ذلك α–α ثنائي البيريديل.

لا تستطيع الكاتيكولامينات عبور الحائل الدموي الدماغي، لذلك يجب أن يتم تخليقها موضعياً في الدماغ. وفي بعض أمراض الجملة العصبية المركزية. كداء باركنسون، يكون هناك عوز موضعي في تخليق الدوبامين. ويعبر L – دوبا، وهو طليعة الدوبامين، الحائل الدموي الدماغي بسهولة، وبذلك فهو عامل مهم في معالجة داء باركنسون (الفصل 64).



الشكل **1-49**: التخليق الحيوي للكاتيكولامينات. (PNMT: ناقلة فينيل إيثانولامين – N–ميثيل).



الشكل 49-2 : تمثيل تخطيطي للتخليق الحيوي للكاتيكولامينات. (TH: هيدروكسيلاز التيروزين؛ DD: نازعة كربوكسيل دوبا؛ PNMT: ناقلة فينيل إيثانولامين – N– ميثيل؛ DBH: β-هيدروكسيلاز الدوبامين؛ ATP: ثلاثي فسفات الأدينوزين.) يجري التخليق الحيوي للكاتيكولامينات ضمن الهيولى وفي حبيبات مختلفة في خلايا لب الكظر. وتحوي بعض الحبيبات الإبينفرين (E)، والنورإبينفرين في البعض الآخر (NE)، في حين يحوي بعضها كلا الهرمونين. وعند التنبيه، تتحرر محتويات الحبيبات إلى السائل خارج الخلوي (ECF).

توجد نازعة كربوكسيل إل دوبا في جميع الأنسجة:

يتطلب هذا الإنزيم الذواب البيريدوكسال فسفات لتحويل L– دوبا إلى 3، 4 ـ ثنائي هيدروكسي الفينيل إيثيلامين (الدوبامين). وتعد المركبات التي تماثل L دوبا، مثل α– ميثيل دوبا، مثبطات تنافسية لهذا التفاعل. وتشكل المركبات الهالوجينية أساس شيف مع L– دوبا، وتثبط أيضاً تفاعل نازعة الكربوكسيل.

وتكون كل من α– ميثيل دوبا والمركبات الأخرى القريبة، مثل 3– هيدروكسي التيرامين (من التيرامين) و α – ميثيل التيروزين والميتارامينول، فعالة في معالجة بعض أنماط فرط ضغط الدم.

يحفز β ـ هيدروكسيلاز الدوبامين (DBH) تحول الدوبامين إلى نورإبينفرين:

إن الـ DBH إنزيم أكسيداز مزدوج الوظيفة، ويستخدم الأسكوربات كمانح للإلكترونات، والنحاس عند المقر الفعال، والفورمات كمعدل. ويوجد الـ DBH في جزء محدد من خلايا لب الكظر، على الأرجح في الحبيبات الإفرازية؛ وبالتالي فإن تحويل الدوبامين إلى نورإبينفرين يحدث في هذا العضي. ويتحرر الـ DBH من لب الكظر أو من النهايات العصبية إلى جانب النورإبينفرين، لكن (وخلافاً للنورإبينفرين) لا يمكنه أن يدخل من جديد للنهايات العصبية عن طريق آلية إعادة القبط.

تحفز ناقلة N ـ ميثيل الفينيل إيثانولامين إنتاج الإبينفرين:

يحفِّز الإنزيم الذواب، ناقلة N ـ ميثيل الفينيل إيثانولامين (PNMT)، المثيلة –N للنورإبينفرين لتشكيل الإبينفرين في الخلايا المشكلة للإبينفرين في لب الكظر. ونظراً لأن PNMT ذواب، لذلك من المفترض أن يجري تحول النورإبينفرين إلى الإبينفرين في الهيولى. ويحرض تخليق الـ PNMT بالهرمونات القشرانية السكرية التي تصل إلى اللب عن طريق الجملة البابية داخل الكظرية. حيث تؤمن هذه الجملة مدروجاً لتركيز الستيرويد يكون أعلى بـ 100مرة من ذلك في الدم الشرياني المجموعي، ويبدو أن هذا التركيز المرتفع داخل الكظر ضروري لتحريض الـPNMT.

تخزن الكاتيكولامينات وتحرر:

يجري الاختزان في الحبيبات الأليفة للكروم:

يحوي لب الكظر حبيبات أليفة للكروم، وهي عضيات قادرة على التخليق الحيوي للكاتيكولامينات وقبطها واختزانها وإفرازها. وتحوي هذه الحبيبات عدداً من المواد بالإضافة إلى الكاتيكولامينات، منها $ATP\text{-}Mg^{2+}$ والـ Ca^{2+} والـ DBH والكروماجرانين A البروتيني. وتدخل الكاتيكولامينات إلى الحبيبة عن طريق آلية

نقل معتمدة على ATP، وتربط هذا النوكليوتيد بالتناسب 4:1 (ATP: هرمون). ويختزن هذا النورإبينفرين في هذه الحبيبات، لكنه يمكن أن يخرج ليجتاز تفاعل المثيلة – N؛ ثم يدخل الأبينفرين المتشكل إلى مجموعة جديدة من الحبيبات.

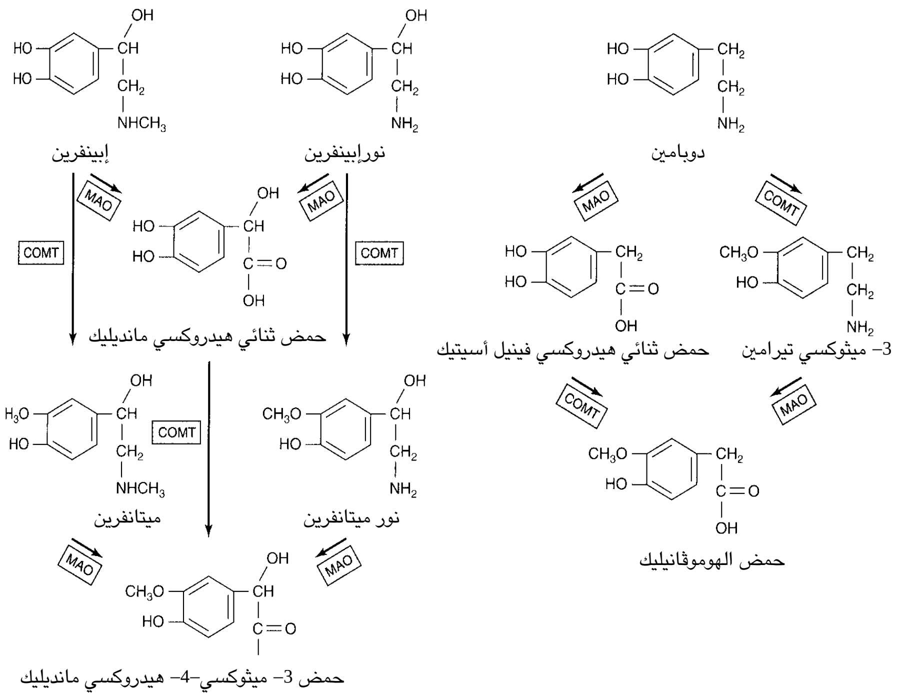
يكون التحرير معتمداً على الكلسيوم:

يؤدي التنبيه العصبي للب الكظر إلى انصهار أغشية حبيبات الاختزان مع الغشاء البلازمي، وهذا يقود إلى تحرير إيماسي (التفاظي) لكل من النورإبينفرين والإبينفرين. وتكون هذه العملية معتمدة على الكالسيوم، وهي، على غرار معظم الأحداث الإيماسية، تتنبه بعوامل كولينية الفعل و α– أدرينالية الفعل وتتثبط بعوامل β– أدرينالية الفعل (الشكل 49-2). وتتحرر الكاتيكولامينات والـ ATP بما يتناسب مع تناسبهما داخل الحبيبات، تماماً كباقي المحتويات الأخرى بما فيها DBH والكالسيوم والكروماجرانين A .

إن إعادة قبط العصبونات للكاتيكولامينات آلية مهمة للمحافظة على هذه الهرمونات، ولإنهاء الفعالية الهرمونية أو فعالية النقل العصبي بسرعة. ولا يمتلك لب الكظر، خلافاً للأعصاب الودية، آلية لإعادة قبط وتخزين الكاتيكولامينات المتحررة. ويذهب الإبينفرين المتحرر من الكظر إلى الكبد والعضلات الهيكلية لكنه يستقلب بعد ذلك بسرعة. ويصل القليل جداً من النورإبينفرين الكظري إلى الأنسجة البعيدة. وتدور الكاتيكولامينات في البلازما وهي مرتبطة بشكل ضعيف بالألبومين. ولها عمر نصفي بيولوجي قصير للغاية (10-30 ثانية).

تتأيض الكاتيكولامينات بسرعة:

يفرغ القليل جداً من الإبينفرين (أقل من 5٪) في البول. وتتأيض الكاتيكولامينات بسرعة بوساطة ناقلة O ميثيل –O كاتيكول وأكسيداز أحاديات الأمين لتشكيل متأيضات O المُمَثْيَلَة ومنزوعة الأمين العاطلة (الشكل 49-3). وتكون معظم الكاتيكولامينات ركائز لكلا هذين الإنزيمين، ويمكن أن تحدث هذه التفاعلات بأي تسلسل كان.



الشكل 49-3 : أيض الكاتيكولامينات بوساطة ناقلة كاتيكول –O– ميثيل (COMT) وأكسيداز أحاديات الأمين (MAO).

إن ناقلة ميثيل –O كاتيكول (COMT) إنزيم في العصارة الخلوية، ويوجد في العديد من الأنسجة. تحفز إضافة زمرة الميثيل عند الموضع الثالث (ميتا: meta) عادة في حلقة البنزين، في مختلف الكاتيكولامينات. ويحتاج هذا التفاعل لكاتيون ثنائي التكافؤ، ويكون مانح الميثيل هو S– أدينوزيل الميثيونين. وتكون نتيجة هذا التفاعل، والتي تعتمد على الركيزة، هي إنتاج كل من حمض الهوموڤانيليك والنورميتانفرين والميتانفرين.

يعد أكسيداز أحاديات الأمين (MAO) إنزيم أكسدة وإرجاع ينزع الأمين من أحاديات الأمين. ويتوضع في العديد من الأنسجة، لكنه يوجد في أعلى تراكيز في الكبد والمعدة والكلية والأمعاء. وقد تبين وجود نظيرين إنزيميين على الأقل لـ MAO. حيث يوجد MAO-A في النسيج العصبي وهو ينزع أمين السيروتونين، والإبينفرين، والنورإبينفرين، في حين يوجد MAO-B في الأنسجة غير العصبية وهو يكون أكثر نشاطاً في مواجهة 2– فينيل إيثيلامين والبنزيلامين. ويتأيض الدوبامين والتيرامين بوساطة كلا الشكلين. وقد تمحور الكثير من جهود الأبحاث حول ربط الاضطرابات العاطفية (الوجدانية) مع زيادة أو نقصان فعالية هذين النظيرين الإنزيميين. واستخدمت مثبطات الـ MAO في معالجة فرط ضغط الدم والاكتئاب، لكن حدوث تفاعلات خطيرة بينها وبين الأطعمة أو الأدوية التي تحوي أمينات محاكية الودي يحد من فائدتها.

تجتاز المشتقات الميثوكسيلية – O تعديلاً إضافياً بالاقتران مع حمض الجلوكورونيك أو السلفوريك:

يتشكل عدد كبير من متأيضات الكاتيكولامينات. ويتمتع صفان من هذه المركبات بأهمية تشخيصية، لأنهما يوجدان بكميات قابلة للقياس بسهولة في البول. وتمثل الميتانفرينات (Metanephrines) المشتقات الميثوكسية للإبينفرين والنورإبينفرين، في حين يكون الناتج O– المتيل منزوع الأمين للإبينفرين والنورإبينفرين هو حمض 3– ميثوكسي– 4 – هيدروكسي الماندليك (يسمى أيضاً حمض الفانيليل ماندليك [VMA]) (الشكل 49-3). ويزداد تركيز الميتانفرينات أو VMA في البول عند أكثر من 95٪ من المرضى بورم القواتم. وتتمتع هذه الاختبارات بدقة تشخيصية ممتازة بخاصة عندما تقترن مع قياس الكاتيكولامينات في البلازما أو البول.

تنظم الدفعات العصبية تخليق الكاتيكولامينات:

يؤدي تنبيه العصب الحشوي، الذي يزود لب الكظر بالألياف قبل العقدية، إلى تحرير التفاظي (إيماسي) للكاتيكولامينات، والبروتين الحامل للحبيبة و DBH.

ويراقب مثل هذا التنبيه بوساطة الوطاء وجذع الدماغ، لكن لم يجر بعد بدقة وصف عروة الارتجاع.

يؤدي التنبيه العصبي أيضاً إلى زيادة تخليق الكاتيكولامينات. ويزداد تخليق النورإبينفرين بعد الكرب الحاد، لكن لا تتغير كمية هيدروكسيلاز التيروزين حتى عندما تزداد فعاليتها. وهيدروكسيلاز التيروزين هي ركيزة للكيناز البروتيني المعتمد على cAMP، وبالتالي فإن هذا التنشيط قد يتضمن فسفتة. ويؤدي الكرب المديد المترافق مع نشاط عصبي ودي مزمن إلى تحريض (زيادة الكمية) هيدروكسيلاز التيروزين. وقد أشارت التقارير إلى حصول تحريض مشابه للمركب DBH. ويعد تحريض إنزيمات سبيل التخليق الحيوي للكاتيكولامينات هذه وسيلة للتلاؤم مع الكرب الفيزيولوجي، وهي تعتمد على عوامل عصبية (تحريض هيدروكسيلاز التيروزين والـ DBH وصماوية (تحريض الـ PNMT).

يمكن تصنيف الكاتيكولامينات بحسب آلية عملها:

لقد استقطبت آلية عمل الكاتيكولامينات انتباه الباحثين لمدة قرن تقريباً. وفي الواقع، يمكن اقتفاء العديد من المفاهيم العامة لبيولوجية المستقبلات والفعل الهرموني من هذه الدراسات المبكرة.

تعمل الكاتيكولامينات من خلال صنفين رئيسيين من المستقبلات، التي يشار إليها بالمستقبلات α– أدرينالية الفعل و β – أدرينالية الفعل، حيث يتألف كل منهما من صنفين فرعيين، أي $\alpha 1$ و $\alpha 1$، و $\beta 1$ و $\beta 2$. ويعتمد هذا التصنيف على الترتيب النسبي لارتباط مختلف النواهض والضواد. ويرتبط الإبينفرين بكل من المستقبلات α و β وينشطها، حيث أن فعله في النسيج الذي يحويهما يعتمد على ألفة هذه المستقبلات النسبية تجاه الهرمون. ويرتبط النورإبينفرين في تراكيز فيزيولوجية مع المستقبلات α بشكل رئيسي.

بنية المستقبل β ـ أدرينالي الفعل معروفة:

أظهر التنسيل الجزيئي للجين ولـ cDNA الخاصين بالمستقبل β– أدرينالي الفعل عند الثدييات بعض الملامح المدهشة. فأولاً، ليس للجين أنترونات (دواخل)، وبذلك فهو يربط الهيستون، وتكون جينات الإنترفيرون كجينات الثدييات مفتقرة لهذه البنى. وثانياً، يكون المستقبل β– أدرينالي الفعل متماثلاً إلى حد بعيد مع الرودوبسين (في ثلاث مناطق ببتيدية على الأقل)، وهو البروتين الذي يستهل العملية التي تحول الضوء إلى استجابة بصرية.

تكون مستقبلات الكاتيكولامينات أعضاء في صف المستقبلات المرتبطة بالبروتين G حيث أن المظهر الأكثر بروزاً لهذه المستقبلات هو سلسلة من المناطق التي تعبر الغشاء البلازمي سبع مرات (الشكل 44-7). وتتخذ هذه المناطق العابرة للغشاء هيئة الحلزونات ـ α.

تكون ثلاث مجموعات فرعية من المستقبلات أدرينالية الفعل مقترنة مع جملة محلقة الأدينيليل:

إن الهرمونات التي ترتبط بالمستقبلات β1 و β2 تنشط محلقة الأدينيليل، في حين أن الهرمونات التي ترتبط بالمستقبلات α2 تثبط هذا الإنزيم (الجدول 44-4).ويحرض ارتباط الكاتيكولامينات تقارن المستقبل ببروتين G الذي يربط فيما بعد الـ GTP. حيث أن هذا الأخير إما أن ينبه (G_S) أو يثبط (G_I) محلقة الأدينيليل، وبذلك فهو ينبه أو يثبط تخليق الـ cAMP. وتنتهي الاستجابة عندما يقوم الـ GTP ase المرتبط بالوحيدة α بحلمهة الـ GTP (الفصل 44). وتقترن المستقبلات α_1 بالعمليات التي تغير تراكيز الكالسيوم داخل الخلوي، أو تعدل استقلاب الفسفاتيديل إينوزيتيد (أو كليهما). ويشترك معقد منفصل للبروتين G في هذه الاستجابة.

هناك تشابه وظيفي بين مستقبلة الكاتيكولامينات وجملة الاستجابة البصرية:

يؤدي تنبيه الرودوبسين بالضوء إلى اقترانه بالترانسدوسين (Transducin)، وهو معقد بروتيني G، وترتبط وحيدته α الـ GTP أيضاً. وينشط البروتين G المنشط بدوره فسفوداي إستيراز الذي يحلمه cGMP. ويؤدي هذا إلى إغلاق قنوات الأيونات في غشاء الخلية العصوية (النبايت) فينتج الاستجابة البصرية. وتنتهي الاستجابة عندما يتحلمه الـ GTP المرتبط بوساطة GTPase المرتبط بالوحيدة α.

ويعرض (الجدول 49-1) قائمة جزئية بالتأثيرات الكيميائية الحيوية والفيزيولوجية التي تتواسطها كل من هذه المستقبلات. ويكون تنشيط البروتينات الفسفورية بكيناز بروتيني معتمد على cAMP (الشكل 44-8) مسؤولاً عن العديد من التأثيرات الكيميائية الحيوية للإبينفرين.

أورام القواتم هي أورام لب الكظر:

لا تكشف هذه الأورام عادة ما لم تقم بإنتاج وإفراز كمية كافية من الإبينفرين والنورإبينفرين لإحداث متلازمة فرط ضغط الدم الوخيم. وغالباً ما تزداد نسبة النورإبينفرين إلى الإبينفرين في ورم القواتم. وقد يكون هذا مسؤولاً عن الاختلافات في التظاهر السريري، لأنه يعتقد أن النورإبينفرين هو المسؤول الرئيسي عن فرط ضغط الدم والإبينفرين عن فرط الأيض.

الخلاصة:

يحوي لب الكظر إنزيمات قادرة على تحويل التيروزين إلى إبينفرين. ويكون هيدروكسيلاز التيروزين هو الإنزيم المحدد للمعدل في هذه العملية، لكن يقوم إنزيم ناقلة ميثيل –N – فينيل الإيثانولامين (PNMT) بلعب دور مهم فيها، حيث يتحرض الـ PNMT بالقشرانيات السكرية، التي تصل لب الكظر من قشر الكظر خلال جملة بابية متخصصة، فتضمن بذلك تركيزاً موضعياً مرتفعاً من الكورتيزول. ويحفز الـ

PNMT تحويل النورإبينفرين إلى إبينفرين. وهذا الأمر مهم لأن الأول، الذي يصنع ويتحرر أيضاً من عصبونات في أماكن أخرى في الجسم، ينشط بشكل رئيسي الجملة α– أدرينالية الفعل التي تتواسط التأثيرات من خلال تثبيط محلّقة الأدينيليل وتحرير الـ Ca^{2+} داخل الخلية. وينشط الإبينفرين بشكل رئيسي الجملة β – أدرينالية الفعل التي تكون تأثيراتها متواسطة بزيادات cAMP. وتكون آليات الفعل هذه منفصلة خلافاً لتلك بالهرمونات الدرقية، التي هي مشتقات من الحمض الأميني التيروزين أيضاً.

ألفا$_1$	**ألفا$_2$**	**بيتا$_1$**	**بيتا$_2$**
زيادة تحلل الجليكوجين	ارتخاء العضلات الملساء	تنبيه تحلل الشحميات	زيادة استحداث السكر في الكبد
تقلص العضلات الملساء	السبيل المعدي المعوي	تقلص عضلة القلب	زيادة تحلل الجليكوجين الكبدي
الأوعية الدموية	تقلص العضلات الملساء بعض الأسرة الوعائية	ازدياد السرعة	زيادة تحلل الجليكوجين العضلي
السبيل البولي التناسلي	الأسرة الوعائية	ازدياد القوة	زيادة تحرر: الإنسولين الجلوكاكون الرينين
	تثبيط: تحلل الشحميات تحرر الرينين تكدس الصفيحات إفراز الإنسولين		
			ارتخاء العضلات الملساء القصبات الأوعية الدموية السبيل البولي التناسلي السبيل المعدي المعوي

الجدول 49-1 : الأفعال التي تتواسطها المستقبلات المتنوعة أدرينالية الفعل.

تسهم الكاتيكولامينات، التي تضم النورإبينفرين والإبينفرين، في عدد من الاضطرابات العصبية النفسية وفي فرط ضغط الدم. وهناك توصية باستخدام العديد من العوامل العلاجية على أساس قدراتها على إحداث تغيير في تخليق الكاتيكولامينات أو أيضها أو فعلها وذلك على مستوى مستقبلاتها الموافقة.

*** References:**

Byland DB et al: International Union of Pharmacology Nomenclature of Adrenoreceptors. *Pharmacol Rev* 1994;46: 1 2 1.

Caron MG, Lefkowitz RJ: Catecholamine receptors: Structure, function, and regulation. *Recent Prog Horm Res* 1993;48:277.

Dohlman HG et al: Model systems for the study of seven transmembrane segment receptors. *Annu Rev Biochem* 1991 ;60:653.

Johnson RG Jr: Accumulation of biological amines into chromaffin granules: A model for hormone and neurotransmitter transport. *Physiol Rev* 1988;68:232.

Nagatsu T: Genes for human catecholamine-synthesizing enzymes. *Neurosci Res* 1991;12:315.

Zigmond RE, Schwarzschild MA, Rittenhouse AR: Acute regulation of tyrosine hydroxylase by nerve activity and by neurotransmitters via phosphorylation. *Annu Rev Neurosci* 1989;12:415.

الفصل الخمسون

هرمونات الغدد التناسلية

Hormones of the Gonads

الاختصارات المستخدمة في هذا الفصل

البروتين الرابط للأندروجين	ABP
الهرمون الموجه لقشر الكظر	ACTH
الجلوبلين الرابط للستيرويدات القشرية	CBG
إيبي أندروستيرون منزوع الهيدروجين	DHEA
ثنائي هيدرو التستوستيرون	DHT
الإستراديول	E2
الهرمون المنبه للجريب	FSH
الهرمون المطلق لموجهة الغدد التناسلية	GnRH
موجهة الغدد التناسلية المشيمائية البشرية	hCG
الموجهة الجسدية الثديية المشيمائية البشرية	hCS
الهرمون الملوتن (هرمون الجسم الأصفر)	LH
عامل موثِّر المثبط	MIF
نازعة هيدروجين 3β– هيدروكسي الستيرويد	3β-OHSD
نازعة الهيدروجين 17β– هيدروكسي الستيرويد	17β- OHSD
محفِّز الإلبان المشيمائي	PL
الجلوبلين الرابط للهرمونات الجنسية	SHBG
الجلوبلين الرابط للهرمون الدرقي	TBG
الجلوبلين الرابط للتستوستيرون والإستروجين	TEBG

مقدمة:

الغدد التناسلية (الأقناد: Gonads) أعضاء ثنائية الوظيفة، تنتج الخلايا الجنسية والهرمونات الجنسية. وهاتان الوظيفتان متقاربتان إلى حد بعيد، حيث أنه من الضروري توافر تراكيز مرتفعة من الهرمونات الجنسية من أجل تطور الخلايا الجنسية. وينتج المبيضان: البيوض والهرمونات الستيرويدية: الإستروجين والبروجستيرون؛ في حين تنتج الخصيتان: النطاف والتِسْتوستيرون. وكما هو الحال في الكظر، يجري إنتاج عدد من الستيرويدات، لكن يكون القليل منها فقط نشيطاً كهرمونات. ويجري تنظيم إنتاج هذه الهرمونات بشكل دقيق من خلال عروة الارتجاع التي تشمل النخامى والوطاء. وتعمل هرمونات الغدد التناسلية بآلية نووية مشابهة لتلك المستخدمة من قبل الهرمونات الستيرويدية الكظرية.

الأهمية الطبية البيولوجية:

إن قيام الغدد التناسلية بوظائفها بشكل مناسب أمر مهم للتوالد وبالتالي لبقاء الأنواع في الحياة. وبالمقابل، إن فهم فيزيولوجية الغدد الصم والكيمياء الحيوية للعملية التوالدية هو الأساس للعديد من أساليب منع الحمل. ويكون لهرمونات الغدد التناسلية أفعال مهمة أخرى؛ فعلى سبيل المثال، تعد هرمونات ابتنائية، وبذلك تكون ضرورية للمحافظة على الأيض في الجلد والعظم والعضلات.

تنتج الخصيتان التستوستيرون والنطاف:

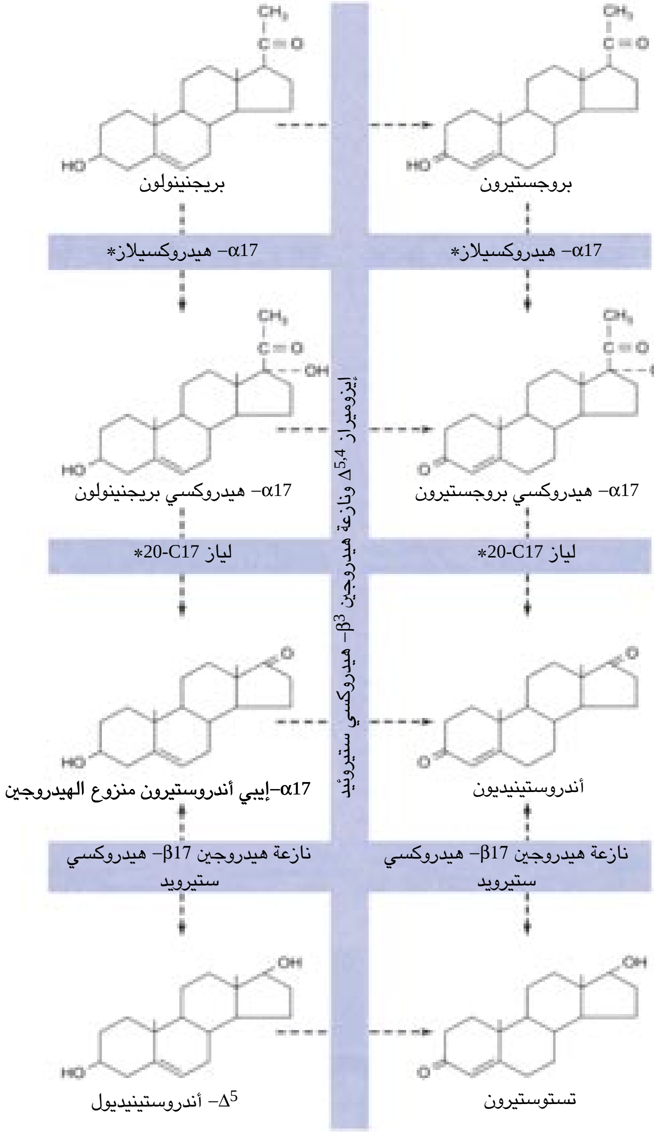
تنجز هذه الوظائف بوساطة ثلاثة أنماط خلوية متخصصة: (1) بزْرة النطفة (Spermatogonia) وخلايا جنسية أكثر تمايزاً، متوضعة في النبيبات ناقلة المني؛ (2) خلايا ليديج (Leydig Cells) (تسمى أيضاً الخلايا الخلالية) التي تكون مبعثرة في النسيج الضام بين النبيبات ناقلة المني الملتفة، وتنتج التستوستيرون استجابة لـ LH؛ و (3) خلايا سِرتْولي (Sertoli Cells)، التي تشكل الغشاء القاعدي للنبيبات الناقلة للمني، كما تؤمن الوسط الضروري لتمايز الخلايا الجنسية ونضجها. ويتنبه

تكوُّن النطاف بوساطة FSH و LH من النخامى. وهذا يحتاج لوسط يساعد على تمايز الخلايا ولتركيز من التستوستيرون أكثر من ذلك الموجود في الدوران الجهازي. ويمكن تلبية هذه الحاجة لأن خلايا ليديج والنبيبات ناقلة المني تكون متقاربة جداً.

يحفّز كل من إنزيم انشطار السلسلة الجانبية بالكوليسترول ونازعة هيدروجين $\beta3$ – هيدروكسي الستيرويد الخطوات المهمة في تخليق ستيرويدات الغدد التناسلية:

يتم تخليق الأندروجينات الخصوية في النسيج الخلالي بوساطة خلايا ليديج. ويكون الكوليسترول هو الطليعة المباشرة لستيرويدات الغدد التناسلية، مثلما هو الحال بالنسبة للستيرويدات الكظرية. وتكون الخطوة المحددة للمعدل، كما هو في الكظر، هي وصول الكوليسترول إلى الغشاء الداخلي للمتقدرات بوساطة بروتين النقل «بروتين التنظيم الحاد لتكون الستيرويدات» (STAR). فهو عندما يكون في الموضع الملائم، فإنه يعمل بوساطة إنزيم انشطار السلسلة الجانبية P450scc. ويكون تحويل الكوليسترول إلى بريجنينولون متطابقاً في الكظر والمبيض والخصية. إلا أنه في النسيجين الأخيرين يتعزز التفاعل بـ LH وليس بـ ACTH.

يتطلَّب تحويل البريجنينولون إلى تسْتوستيرون فعل خمس فعاليات إنزيمية موجودة في ثلاثة بروتينات: (1) نازعة هيدروجين $\beta3$ – هيدروكسي الستيرويد (3β-OHSD) والإيزوميراز $\Delta^{4,5}$؛ (2) و $\alpha17$ – هيدروكسيلاز واللياز C17,20؛ و (3) نازعة هيدروجين $\beta17$ – هيدروكسي الستيرويد (17β-OHSD). ويلاحظ أن كلا البروتينَيْن 1 و 3 يمتلك كل منهما فعاليات إنزيمية منفصلة ويعرف هذا التسلسل بسبيل البروجستيرون (أو Δ^4)، وهو مبين في الجهة اليمنى من (الشكل 50-1). ويمكن أن يتحول البريجنينولون أيضاً إلى التستوستيرون بوساطة سبيل الإيبي أندروستيرون منزوع الهيدروجين (أو Δ^5)، الذي يظهر في الجهة اليسرى من (الشكل 50-1). ويبدو أن طريق Δ^5 هو المفضل في الخصيتين عند الإنسان. وقد توجد فوارق مهمة بين الأنواع.



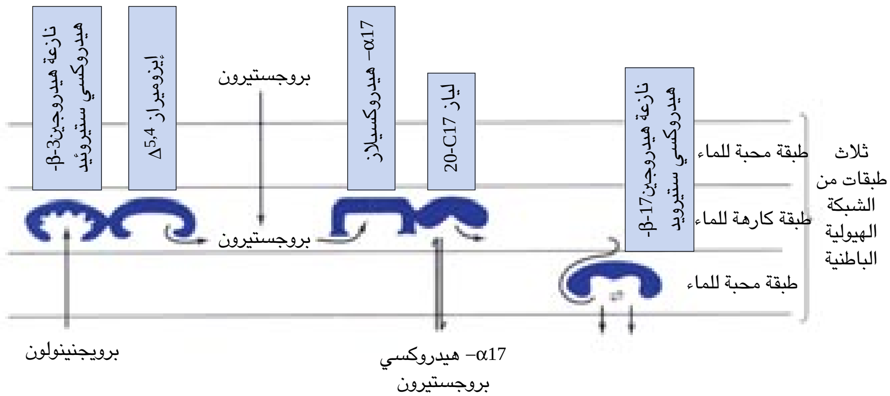
الشكل 50-1 : سبل التخليق الحيوي للتستوستيرون. يسمى السبيل في الجانب الأيسر من الشكل بسبيل Δ^5 أو الإيبي أندروستيرون منزوع الهيدروجين؛ أما السبيل في الجانب الأيمن فيسمى سبيل الـ Δ^4 أو البروجستيرون. تشير النجمة إلى أن فعاليات كل من α-17 هيدروكسيلاز ولياز C17–20 تكمن في بروتين واحد هو P450c17.

تتوضع الفعاليات الإنزيمية الخمسة في الجزء الصغروري (الجسيمات الصغرية) في خصى الجرذان، ويوجد علاقة وظيفية قوية بين فعاليات 3β-OHSD والإيزوميراز $\Delta^{5,4}$ وبين تلك التي لـ α17 هيدروكسيلاز والليّاز C17,20. ويبين الشكل 50-1 هذه الأزواج الإنزيمية الموجودة كلها في بروتين وحيد، وذلك في تسلسل التفاعلات العامة وفي تمثيل توضيحي للتخليق الحيوي للأندروجينات في الغشاء الصغروري بالخصى في (الشكل 50-2). ويبين الشكل الأخير كيف يمكن للركائز المتنوعة في التخليق الحيوي للتستوستيرون الدخول إلى الحجيز الصغروري، وكيف يمكنها المتابعة عن طريق سبيل Δ^4 من تفاعل إلى الذي يليه. ونظراً لأنه توجد أربع ركائز ممكنة لما يبدو أنه 3β-OHSD وحيداً، فإنه توجد عدة سبل بديلة؛ لذلك فالطريق المسلوك يعتمد غالباً على تركيز الركيزة في جوار الإنزيمات المختلفة، وقد يوفر التقاسم في الغشاء الصغروري هذه المدروجات.

1 – يتشكل ثنائي هيدرو التستوستيرون (DHT) من التستوستيرون بإرجاع الحلقة A: تفرز الخصيتان عند الإنسان 50-100 مكجم تقريباً من DHT يومياً، لكن معظم الـ DHT يكون مشتقاً من الانقلاب المحيطي (انظر فيما بعد). وتصنع الخصى أيضاً كميات صغيرة لكنها مهمة من β17 إستراديول (E_2)، وهو الهرمون الجنسي الأنثوي، إلا أن معظم E_2 المنتَج عند الذكر يشتق من عملية الأرمتة (التحويل لمركب عطري) التي تجري في المحيط على التستوستيرون والأندروستينيديون. ويعتقد أن خلايا ليديج وخلايا سرتولي والنبيبات ناقلة المني تساهم في إنتاج E_2. ولم يحدد بعد دور E_2 عند الذكر، لكنه قد يشترك في تنظيم FSH. وتترافق مستويات مرتفعة على نحو شاذ من E_2 في البلازما وتغيرات في نسبة E_2 الحر إلى التستوستيرون الحر مع تثدي الرجل (Gynecomastia) عند البلوغ أو بعد البلوغ (تضخم الثدي عند الذكر) بخاصة عند الأفراد المسنين وعند المرضى بداء كبدي مزمن أو بفرط الدرقية.

2 – يخضع إنتاج الهرمونات الخصوية لتغيرات واضحة مرتبطة بالعمر: إن التستوستيرون هو الهرمون السائد في الجرذ الجنين والوليد، لكن تقوم الخصيتان بصنع الأندروستيرون فقط بعد الولادة مباشرة. وتستعاد القدرة على إنتاج

التستوستيرون عند البلوغ، وتستمر مدى الحياة. ويوجد ما يماثل مثل هذه الملاحظات في أنواع أخرى، وقد تظهر هذه التغيرات المرتبطة بالعمر في الإنسان أيضاً.



الشكل 50-2 : مخطط يوضح التخليق الحيوي للأندروجينات في غشاء الجسيمات الصغرية الخصوية. يظهر الغشاء بشكل أفقي، وهي الحالة التي قد يكون عليها في الخلية؛ إلا أنه، في محضرات الجسيمات الصغرية، يشكل حويصلات. (A: أندروستينيديون؛ T: تستوستيرون).

يرتبط التستوستيرون ببروتين بلازمي نوعي:

يوجد لدى معظم الثدييات، بما فيها الإنسان، β– جلوبلين بلازمي يربط التستوستيرون بنوعية وبألفة عالية نسبياً وبسعة محدودة (الجدول 50-1). وينتج هذا البروتين، الذي يدعى عادة الجلوبلين الرابط للهرمونات الجنسية (SHBG) أو الجلوبلين الرابط للتستوستيرون والإستروجين (TEBG) في الكبد. ويزداد إنتاجه بتأثير كل من الأستروجينات (يوجد عند النساء ضعف التركيز المصلي من SHBG الذي عند الرجال)، وفي أنماط معينة من الأمراض الكبدية، وفي فرط الدرقية؛ في حين يتناقص بالأندروجينات، وتقدم العمر، وفي قصور الدرقية. ويؤثر العديد من هذه الحالات أيضاً في إنتاج الـ CBG (الفصل 48) والـ TBG (الفصل 46).

وحيث أن SHBG والألبومين يربطان 97-99٪ من التستوستيرون فى الدم، فإن جزءاً صغيراً فقط من الهرمون في الدورة الدموية يكون في الشكل الحر، (النشيط بيولوجياً). وقد تكون الوظيفة الأساسية لـ SHBG هي تقييد التركيز الحر للتستوستيرون في المصل. ويرتبط التستوستيرون بـ SHBG بألفة أعلى من ارتباط الإستراديول به (الجدول 50-2). لذلك فإن التغير في مستوى الـ SHBG يسبب تبدلاً كبيراً في مستوى التستوستيرون الحر أكثر من التبدل الذي يطرأ على مستوى الإستراديول الحر. وقد يسهم الـ SHBG في ازدياد نسبة E_2 الحر إلى التستوستيرون الحر التي تلاحظ مع تقدم العمر وفي التشمع وفرط الدرقية، ولذلك فهو يسهم في العلامات والأعراض المرافقة لعمليات التحويل للإستروجين (Estrogenization) المذكورة أعلاه.

يوجد عدد من الستيرويدات في الدم الوريدي الخصوي، لكن التستوستيرون هو الستيرويد الرئيسي الذي تفرزه الخصى عند البالغ. يبلغ معدل إفراز التستوستيرون نحو 5 مجم/ يومياً عند الذكور البالغين الأسوياء. ويبدو أن التستوستيرون على غرار باقي الهرمونات الستيرويدية، يتحرر حالما يتم إنتاجه.

الستيرويدات المرتبطة	الستيرويدات غير المرتبطة
التستوستيرون	الأندروجينات المقترنة
β17 – إستراديول	17 ألفا – تستوستيرون
ثنائي هيدرو تستوستيرون	ثنائي هيدرو إيزو أندروستيرون
β17 هيدروكسي الستيرويدات الأخرى	الكورتيزول
الإسترون	البروجستيرون

الجدول 50-1 : ارتباط الهرمون بالجلوبلين الرابط للهرمونات الجنسية (SHBG).

	[1]SHBG	[1]CBG
الإستراديول	5	10 <
الإسترون	10 <	100 <
الأندروستينيديون	...	...
التستوستيرون	2	100 <
ثنائي هيدرو التستوستيرون	1	100 <
البروجستيرون	100 <	2
الكورتيزول	100 <	3

الجدول 2-50 : الألفة التقريبية للستيرويدات تجاه البروتينات المصلية الرابطة
(1) يعبر عن الألفة بـ K_d للكمية المولية X10^9.

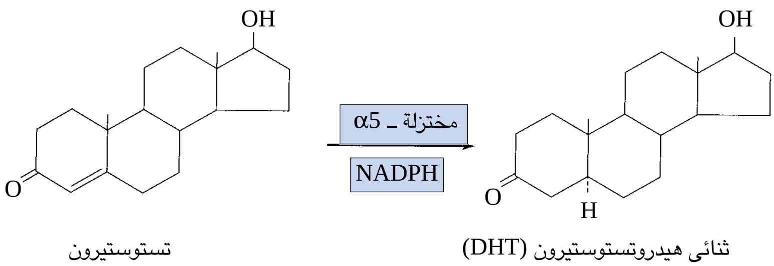
يكون العديد من متأيضات التستوستيرون عاطلاً، ولبعضها الآخر فعاليات متزايدة أو مختلفة:

أ – السبل الأيضية: يتأيض التستوستيرون بوساطة سبيلين. حيث يتضمن أحدهما الأكسدة في الموضع 17، أما الآخر فيتضمن إرجاع الرابطة المضاعفة بالحلقة A والكيتون –3. ويجري الأيض عن طريق السبيل الأول في العديد من الأنسجة، بما في ذلك الكبد، وينتج 17– كيتوستيرويدات التي تكون بشكل عام عاطلة أو أقل فعالية من المركب الأصلي. أما الأيض عن طريق السبيل الثاني، والذي يكون أقل فاعلية، فهو يحدث في الأنسجة المستهدفة بشكل رئيسي وينتج المتأيض القوي DHT.

ب – متأيضات التستوستيرون: إن DHT هو أكثر النواتج الأيضية أهمية للتستوستيرون، لأنه في العديد من الأنسجة، بما في ذلك البروستاتة وأعضاء التناسل الظاهرة وبعض مناطق الجلد، يكون هو الشكل النشيط من الهرمون. ويبلغ المحتوى البلازمي من DHT عند الذكر البالغ نحو عُشْر محتوى التستوستيرون، وينتج 400 مكجم تقريباً من DHT يومياً، بالمقارنة مع 5 مجم من التستوستيرون تقريباً. ويحفز التفاعل بإنزيمات مختزلة ـ α5 المعتمدة على NADPH (الشكل 50-3). وهناك شكلان من مختزلة ـ α5: النمط I و II ويجري التعبير عن النمط I في الكبد بشكل غالب. في حين يعبر عن النمط II في الأنسجة التوالدية والأهداف المحيطية. وتكون طفراتُ الإنزيم من النمط II مترافقة مع الخنوثة الذكرية الكاذبة.

بهذا الشكل، يمكن أن يعد التستوستيرون طليعة هرمونية، لأنه يتحول إلى مركب أقوى بكثير (ثنائي هيدرو التستوستيرون)، ولأن معظم هذا التحول يجري خارج الخصى. كما تتحول نسبة مئوية صغيرة من التستوستيرون إلى إستراديول عن طريق الأرمتة، وهو تفاعل مهم بشكل خاص في الدماغ، حيث تساعد هذه الهرمونات في تحديد السلوك الجنسي عند الحيوان (انظر الشكل 50-4).

تقترن متأيضات 17– كيتوستيرويد الرئيسية، وهي الأندروستيرون والإيتيوكولانولون بالجلوكورونيد والسلفات في الكبد لتصبح مركبات ذوابة في الماء وقابلة للإفراغ.



الشكل 50-3 : يتشكل ثنائي هيدروتستوستيرون من التستوستيرون من خلال فعل إنزيم مختزلة ـ α5.

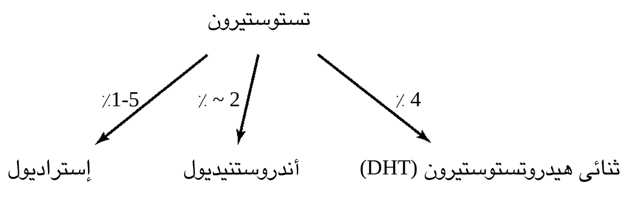
يجري تنظيم الوظيفة الخصوية بعدد من الهرمونات:

ينبه تكون الستيرويدات في الخصى بوساطة LH:

ينبه LH تكون الستيرويدات وإنتاج التستوستيرون بارتباطه مع مستقبلات على الغشاء البلازمي لخلايا ليديج (يوجد مستقبل مضاهئ للـ LH في المبيض على خلايا الجسم الأصفر) وتنشيط محلقة الأدينيليل، وبذلك يزداد cAMP داخل الخلوي. ويحسن هذا الفعل معدل نقل الكوليسترول بوساطة STAR وانشطار السلسلة الجانبية بوساطة P450scc. ويكون التشابه واضحاً بين فعل الـ LH هذا وفعل ACTH في الكظر. ويقوم التستوستيرون بأعباء التحكم بالارتجاع على مستوى الوطاء من خلال تثبيط تحرر GnRH، أو إنتاج GnRH، أو كليهما (الشكل 50-5).

يجري تنظيم تكون النطاف بكل من FSH والتستوستيرون:

يرتبط FSH بخلايا سرتولي ويعزز تخليق البروتين الرابط للأندروجين (ABP). حيث أن ABP بروتين سكري يربط التستوستيرون. وهو متميز عن مستقبلة الأندروجين داخل الخلية، لكنه يماثل الـ SHBG. ويفرز ABP إلى تجويف النبيب الناقل للمني، وفي هذه العملية ينقل التستوستيرون المنتج من خلايا ليديج إلى موقع تكون النطاف بتركيز مرتفع جداً. ويبدو أن هذا الأمر خطوة حاسمة، لأن المستويات المجموعية السوية للتستوستيرون، مثلما قد يتحقق بالعلاج التعويضي، لا تدعم تكون النطاف.



الشكل 50-4 : تتحول كمية معينة من التستوستيرون إلى هرمونات أخرى.

تنتج خلايا سرتولي، استجابة لـ FSH والأندروجينات، الإنهيبين (Inhibin) أيضاً. حيث أن الإنهيبين هو مثنوي غيري يوجد في شكلين: $(\alpha\beta_A)A$ و $(\alpha\beta_B)B$ وكلاهما متعلق إلى حد بعيد بعامل مولر للتقهقر (التراجع)، وتكون جميع هذه البروتينات أعضاء في فصيلة TGF-β. ويشترك الإنهيبين في إنتاج النطاف والتستوستيرون بتنظيم إفراز FSH من خلال عروة ارتجاع سلبية.

تؤثر الأندروجينات في عدة عمليات فيزيولوجية معقدة:

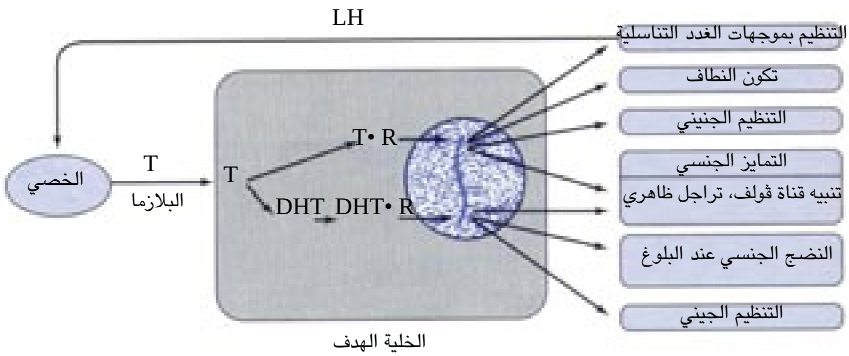
تشترك الأندروجينات، بشكل أساسي التستوستيرون و DHT، في (1) التمايز الجنسي، (2) وتكون النطاف، (3) وتطور الأعضاء الجنسية الثانوية والبنى الجمالية (الإضافية) (4) والأيض الابتنائي والتنظيم الجيني، و (5) سلوك النموذج الذكري (الشكل 50-3). وتحدد الأنسجة المستهدفة المتعددة المشتركة في هذه العمليات المعقدة بحسب تأثرها بالتستوستيرون أو بـ DHT. وتكون الخلايا الهدفية التقليدية لـ DHT (وتلك التي تمتلك بالوقت ذاته الفعالية الأعلى لمختزلة ـ α5) هي البروستاتة وأعضاء التناسل الظاهرة وجلد مناطق التناسل. وتضم أهداف التستوستيرون كلاً من بنى «ڤولف» (Wollfian) المضغية (الجنينية) وبزرة النطاف والعضلات والعظم والكلية والدماغ. ولم يحدد بعد الأندروجين النوعي الذي يشترك في تنظيم العديد من العمليات الأخرى المذكورة أعلاه.

تعمل الأندروجينات بآلية نووية مشابهة لتلك التي تستخدمها الستيرويدات الكظرية:

يبين (الشكل 50-5) المفهوم الحديث لفعل الأندروجينات. حيث يدخل التستوستيرون الحر إلى الخلايا خلال الغشاء البلازمي إما بالانتشار المنفعل أو الميسر. وتقوم الخلايا الهدفية باحتجاز التستوستيرون، ربما لأن الهرمون يرتبط بمستقبل نوعي داخل الخلية، وقد جرى تحديد شكلين لمستقبل الأندروجين. فالشكل A له كتلة جزيئية قدرها 87 ك. دالتون، والشكل B له كتلة قدرها 110 ك. دالتون.

ومع أنه يوجد تباين ملحوظ من نسيج لآخر، إلا أن معظم الهرمون المحتجز يكون موجوداً في نواة الخلية. وتحوي هيولى العديد (وليس الجميع) من الخلايا الهدفية إنزيم مختزلة ـ α5 ، الذي يحوِّل التستوستيرون إلى DHT. وتتجاوز ألفة مستقبلات الـ DHT تلك التي للتستوستيرون. ويمكن للاختلاف في الألفة، والمقترن مع قدرة نسيج هدف ما على تشكيل الـ DHT من التستوستيرون، أن يحدد ما إذا كان معقد تستوستيرون ـ مستقبل أو معقد DHT ـ مستقبل يكون نشيطاً. ويكون التوضع النووي لمعقد تستوستيرون ـ DHT مستقبل شرطاً أساسياً لفعل الأندروجين. وقد يتضمن ارتباط معقد المستقبلة ـ ستيرويد بالكروماتين خطوة تنشيط سابقة، وتنتج النوعية عن عنصر الاستجابة للأندروجين (الجدول 44-3).

لقد أصبح من الواضح مؤخراً أن معقد -DHT مستقبل يرتبط بألفة بعنصر الاستجابة للأندروجين، وتكون أعلى مما يفعله معقد تستوستيرون ـ مستقبل. وهذا ما قد يفسر أيضاً لماذا يكون الـ DHT هو الأندروجين الأقوى في بعض الأنسجة.



الشكل 5-50 : آلية عمل الأندروجينات. (LH: الهرمون الملوتن؛ T: تستوستيرون؛ DHT: ثنائي هيدروتستوستيرون؛ R:مستقبل الأندروجين).

انسجاماً مع هرمونات ستيرويدية أخرى (وبعض الببتدية)، يقوم معقد مستقبلة ـ تستوستيرون ـ DHT بتنشيط جينات نوعية. وتتواسط النواتج البروتينية لهذه الجينات العديد من تأثيرات الهرمون (إن لم تكن جميعها). وينبِّه التستوستيرون تخليق البروتينات في الأعضاء الذكرية الإضافية، وهو التأثير الذي يكون عادة مترافقاً مع زيادة تراكم الرنا (RNA) الإجمالي في الخلية، بما في ذلك mRNA و tRNA و rRNA. ويتضمن المثال الأكثر نوعية تأثير التستوستيرون في تخليق الـ ABP. حيث يزيد الهرمون معدل انتساخ جين الـ ABP، الذي يؤدي إلى زيادة كمية mRNA الذي يرمز هذا البروتين. وهناك مثال آخر مدروس جيداً هو α_{2u} جلوبلين، وهو البروتين الرئيسي المفرغ في بول الفأر الذكر. حيث يتعلق معدل تخليق α_{2u} جلوبلين بشكل مباشر بكمية mRNA المطابق، الذي يتعلق بدوره بمعدل انتساخ جين α_{2u} جلوبلين. وتتنبه جميع هذه الأحداث بالأندروجينات.

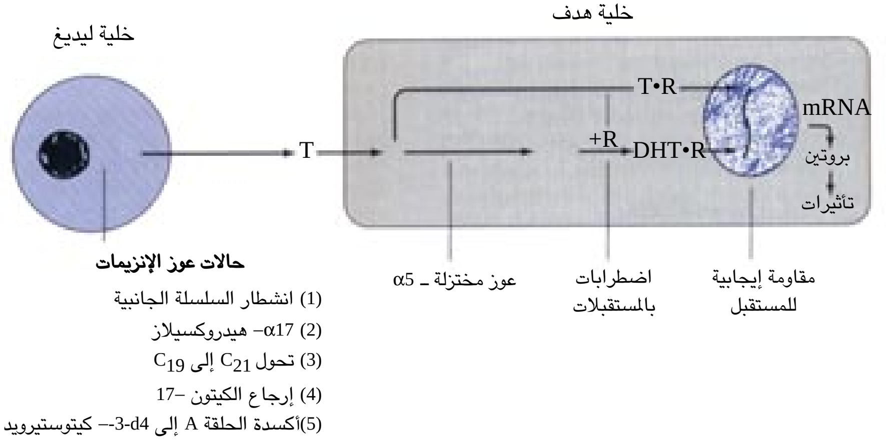
تعد الكلية نسيجاً هدفاً رئيسياً للأندروجينات. وتسبب هذه الهرمونات تضخماً عاماً في الكلية، وتحرض تخليق عدد من الإنزيمات في أنواع مختلفة.

تنبه الأندروجينات أيضاً تنسخ (تضاعف) الخلايا في بعض الأنسجة المستهدفة، ولم يفهم هذا التأثير بشكل جيد بعد. ويبدو أن التستوستيرون أو DHT، بالاشتراك مع E_2، متورطان في الانقسام الواسع وغير المضبوط لخلايا البروستاتة التي تؤدي إلى ضخامة البروستاتة الحميدة، وهي حالة تصيب نحو 75٪ من الذكور بعد عمر 60 عاماً.

تتعلق الفيزيولوجيا المرضية للجملة التوالدية عند الذكر بالتأثيرات الهرمونية:

يطلق على عدم تخليق التستوستيرون اسم قصور الغدد التناسلية (Hypogonadism). وإذا حدث ذلك قبل البلوغ، فإن الصفات الجنسية الثانوية تخفق في الظهور، أما إذا حدث عند البالغين فإن العديد من هذه الملامح يتراجع. وينجم قصور الغدد التناسلية الأولي عن عمليات تؤثر في الخصى بشكل مختلف. وتسبب قصوراً خصوياً؛ في حين ينجم قصور الغدد التناسلية الثانوي عن إفراز معيب لموجهات الغدد التناسلية.

وتساعد حالات العوز الوراثية المستقلة في تأكيد أهمية بعض الخطوات النوعية في التخليق الحيوي للأندروجينات وفعلها. ويمثل (الشكل 50-6) السبيل المساهم في فعل الأندروجين من التخليق الحيوي للتستوستيرون إلى الأفعال بعد المستقبلات للتستوستيرون و DHT. وقد أمكن وصف خمس عيوب وراثية منفصلة على الأقل في التخليق الحيوي للتستوستيرون. بالإضافة إلى أن عوز مختزلة ـ α5 أضحى معروفاً.



الشكل 50-6 : الطفرات المسهمة في قصور عمل الأندروجينات. وتبدو الخطوات الأربعة التي تم عندها تحديد الطفرات. (T: تستوستيرون؛ DHT: ثنائي هيدروتستوستيرون؛ R = مستقبلة الأندروجين).

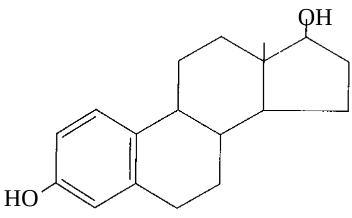
هناك عدد من الحالات التي لا تكشف فيها مستقبلة الستوستيرون DHT ولا المستقبلة التي تكون غير سوية بشكل أو بآخر. وهناك عدد من الحالات التي تكون فيها كافة الموجودات القابلة للقياس، بما في ذلك المستقبلة، سوية، لكن يبدي المرضى (دائماً ذكور وراثيين) درجات متفاوتة من الاستئناث. أما الأفراد الذين يفتقرون تماماً لفعالية المستقبل فإنهم يبدون إناثاً في النمط الظاهري، لكن يكون لديهم النمط الجيني YX (ذكراً)، في حين قد يكون لدى الحالات الأقل شدة إحليلاً

قضيبياً متوضعاً بشكل غير سوي فقط. ويكون لدى الذكور الوراثيين الذين يفتقرون كلياً للمستقبلات الوظيفية خصيتان وينتجون التستوستيرون، لكن يكون لديهم استئناث كامل في أعضاء التناسل الظاهرة (أو ما يدعى بمتلازمة الاستئناث الخصوي Testicular Feminization Syndrome).

ينتج المبيضان الهرمونات الجنسية الأنثوية والخلايا الجنسية الأنثوية:

إن التخليق الحيوي للهرمونات المبيضية وأيضها مشابهان لتلك المتعلقة بالهرمونات الذكرية:

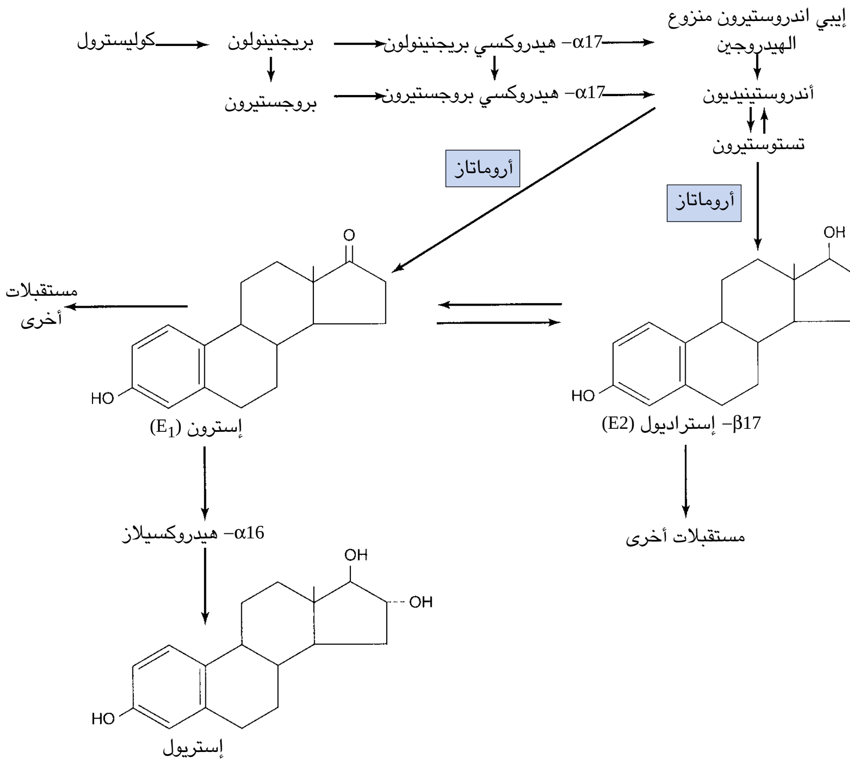
الإستروجينات فصيلة من الهرمونات يتم تخليقها في أنواع مختلفة من الأنسجة. ويكون β17– إستراديول هو الإستروجين الأولي من منشأ مبيضي. وفي بعض الأنواع، يكون الإسترون، الذي يخلق في أنسجة عديدة، هو الأكثر وفرة. وفي الحمل يجري إنتاج مقدار أكبر نسبياً من الإستريول، الذي يأتي من المشيمة. ويكون السبيل العام والتوضع دُوَيْن الخلوي للإنزيمات المشاركة في الخطوات الأولية من تخليق الإستراديول هي مماثلاً لتلك المساهمة في التخليق الحيوي للأندروجين. ويبين (الشكل 50-7) الملامح الخاصة بالمبيض.



β17– إستراديول

تتشكل الإستروجينات بتحول الأندروجينات العطري [الأرمتة] في عملية معقدة تضم ثلاث خطوات هدرلة، يتطلب كل منها الـ O_2 و NADPH. ويعتقد أن معقد إنزيم الأروماتاز يضم أكسيداز P450 مختلط الوظيفة. ويتشكل الإستراديول إذا

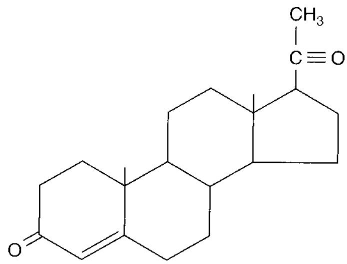
كانت ركيزة هذا المعقد الإنزيمي هو التستوستيرون، في حين ينتج الإسترون عن خضوع الأندروستينيديون للأرمتة.



الشكل 7-50 : التخليق الحيوي للإستروجينات.

اتضح أنه من الصعب معرفة المصدر الخلوي للستيرويدات المبيضية المتعددة، لكن يمكن لنقل الركائز بين نمطين خلويين أن يسهم في ذلك. وتكون الخلايا القرابية هي مصدر الأندروستينيديون والتستوستيرون. وهذان يتحولان بوساطة إنزيم الأروماتاز في الخلايا الحبيبية إلى الإسترون والإستراديول على الترتيب. ويُنتج البروجستيرون ويفرز بوساطة الجسم الأصفر، الذي يصنع أيضاً بعض الإستراديول.

تنتج كميات معتبرة من الإستروجينات عن طريق الأرمتة المحيطية للأندروجينات. وتكون الأرمتة المحيطية من التستوستيرون إلى إستراديول (E_2) عند ذكور الإنسان مسؤولة عن 80٪ من معدل إنتاج الأخير. أما عند الإناث، فتكون الأندروجينات الكظرية ركائز مهمة، لأن مقدار 50٪ من E_2 المنتج في أثناء الحمل يأتي من أرمتة الأندروجينات. وأخيراً يكون تحول الأندروستينيديون إلى إسترون هو المصدر الرئيسي للإستروجينات لدى النساء بعد الإياس. وتوجد فعالية للأروماتاز في الخلايا الشحمية، وأيضاً في الكبد والجلد وأنسجة أخرى. وقد تسهم زيادة فعالية هذا الإنزيم في عملية التحويل للإستروجين التي تميِّز مثل هذه الأمراض، كتليف الكبد وفرط الدرقية وتقدم العمر والسمنة.



1– بروجستيرون

ترتبط الإستروجينات والبروجستينات ببروتينات بلازمية ناقلة:

تكون الإستروجينات مرتبطة بالـ SHBG، والبروجستينات بالـ CBG. ويقوم الـ SHBG بربط الإستراديول بدرجة شره تقل خمس مرات عن درجة ربطه للتستوستيرون أو للـ DHT، في حين يكون للبروجسترون وللكورتيزول ألفة قليلة تجاه هذا البروتين (الجدول 50-2). وبالمقابل، فإن البروجسترون والكورتيزول يرتبطان بألفة متساوية تقريباً بالـ CBG الذي له ألفة متساوية تقريباً بالـ CBG والذي له بدوره درجة شره قليلة نحو الإستراديول ودرجة شره أقل تجاه الإستراديول ودرجة شره أقل تجاه التستوستيرون، أو DHT، أو الإسترون.

تؤمن بروتينات الارتباط مخزوناً دورانياً للهرمون، وبسبب سعة الارتباط الكبيرة نسبياً لها، فهي تقوم على الأرجح بدور دارئ ضد التغيرات المفاجئة في المستوى البلازمي. وتتعلق معدلات تصفية هذه الستيرويدات أيضياً عكسياً بألفة ارتباطها

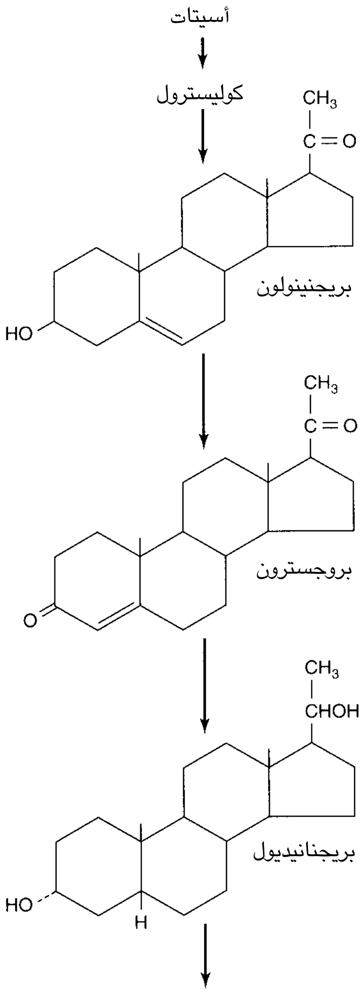
بالـ SHBG؛ لذلك تجري تصفية الإسترون بسرعة أكبر من الإستراديول الذي يصفى بدوره بأسرع من التستوستيرون أو الـ DHT. وفي هذا الخصوص، لا تكون المشتقات المقترنة لهذه الهرمونات (انظر سابقاً) مرتبطة بـ SHBG أو بـ SBG. وقد سبق أن ناقشنا العوامل التي تنظم إنتاج الـ SHBG. وتتوافر بعض الأدلة على وجود مستقبلات نوعية لـ SHBG و (CBG) على السطح الخلوي، لكن لم يتم التثبت من وظيفتها. وليس هناك من شك في أن الهرمون الحر يكون نشيطاً بيولوجياً.

يتفاوت معدل إفراز الستيرويدات المبيضية بشكل ملحوظ خلال الدورة الحيضية (الودقية: Estrous) ويتناسب طرديا مع معدل الإنتاج في المبيض. ولا يجري اختزان هذه المركبات؛ بل تفرز عندما يتم إنتاجها.

تتأيض الإستروجينات والبروجستينات بشكل نشيط في الكبد:

أ – الإستروجينات: يقوم الكبد بتحويل الإستراديول والإسترون إلى إستريول بالسبيل (المسار) الموضح في (الشكل 50-7). ويعد كل من الإستراديول والإسترون والإستريول ركائز للإنزيمات الكبدية التي تضيف أجزاء الجلوكورونيد أو السلفات. وتتباين فعالية إنزيمات الاقتران هذه بين الأنواع. فالقوارض تملك مثل هذه الجمل (الأجهزة) الإنزيمية المؤيضة النشيطة، لدرجة أن الإستروجينات تتأيض بشكل كامل تقريباً في الكبد، ولذلك فهي تكون بلا فعالية بشكل أساسي عندما تعطى عن طريق الفم. وتكون هذه الجمل الإنزيمية أقل نشاطاً في الرئيسيات، بحيث تكون الإستروجينات الفموية أكثر فاعلية. وتكون الستيرويدات المقترنة ذوابة في الماء ولا ترتبط ببروتينات ناقلة؛ لذلك فهي تفرغ مباشرة في الصفراء والبراز والبول.

ب – البروجستينات: نظراً لأن الكبد يؤيض بشكل نشيط البروجسترون إلى عدة مركبات، فإن البروجستيرون يكون غير فعال عندما يُعطى عن طريق الفم. ويعد بريجنانيديول –20 – جلوكورونيد الصوديوم المتأيض البروجستيني الرئيسي الذي يوجد في بول الإنسان (الشكل 50-8). ويكون لبعض الستيرويدات الصنعية، كمشتقات α17– هيدروكسي بروجسترون ومركبات 19– نورتستوستيرون المستبدلة بالألكيل عند –α17، يكون لها فعالية بروجسترونية، ولا تتأيض في الكبد. لذا فهي تستخدم بشكل واسع في مانعات الحمل الفموية.



الشكل 8-50 : التخليق الحيوي للبروجستيرون والسبيل الرئيسي لأيضه. كما تظهر في الشكل المستقلبات الأخرى.

إن نضج الجهاز التوالدي والمحافظة عليه عند الإناث هو الوظيفة الرئيسية للهرمونات المبيضية:

تهيئ هذه الهرمونات المكونات البنيوية للجهاز التوالدي الأنثوي (انظر لاحقاً) من أجل التوالد من خلال (1) إنضاج الخلايا الجنسية البدئية، (2) وتنمية الأنسجة

التي ستسمح بانغراس الكيسة الأريمية (Blastocyst)، (3) وتأمين «التوقيت الهرموني» للإباضة، (4) وتدعيم الوسط اللازم للمحافظة على الحمل، و (5) توفير التأثيرات الهرمونية للولادة والإرضاع.

تنبه الإستروجينات نمو الأنسجة المساهمة في التوالد. وتنبه هذه الهرمونات عموماً حجم الخلايا وعددها عن طريق زيادة معدل تخليق البروتينات و rRNA و tRNA و mRNA والدنا (DNA). وعند حدوث التنبيه بالإستروجين، فإن الظهارة المهبلية تتكاثر وتتمايز؛ وتتكاثر كذلك بطانة الرحم وتتضخم الغدد وتتطاول؛ وتظهر عضلية الرحم حركة نظمية داخلية المنشأ، وتتكاثر قنوات الثدي. كما يكون للإستراديول تأثيرات ابتنائية في العظم والغضروف، فهو بذلك يُعزز النمو أيضاً. وتسبب الإستروجينات إلى حد نموذجي توسع الأوعية وتبديد الحرارة، من خلال التأثير في الأوعية الدموية المحيطية.

تنقص البروجستينات الفعالية التكاثرية للإستروجينات في الظهارة المهبلية وهي تحول الظهارة الرحمية من تكاثرية إلى إفرازية (زيادة حجم الغدد الإفرازية ووظيفتها وزيادة محتواها من الجليكوجين)، وبذلك فهي تهيئ الظهارة الرحمية لانغراس البيضة المخصبة. وتعزز البروجستينات نمو الأجزاء العنيبية في غدد الثدي بعد أن تكون الإستروجينات قد نبهت نمو القنوات. وتنقص البروجستينات تدفق الدم المحيطي، وبذلك تخفض من ضياع الحرارة، بحيث تميل درجة حرارة الجسم إلى الارتفاع خلال الطور الأصفري من الدورة الحيضية، عندما يتم إنتاج هذه الستيروئيدات. ويستخدم ازدياد درجة الحرارة هذا، عادة 0.5 درجة مئوية، كمؤشر على الإباضة.

تحتاج البروجستينات عموماً لوجود الإستروجينات بشكل مسبق أو في الوقت نفسه، ربما لأن الإستروجينات تنبِّه إنتاج مستقبل البروجستيرون. ويعمل هذان الصنفان من الهرمونات بشكل تآزري غالباً، مع أنهما يمكن أن يكونا متعاكسين.

يصل عدد بذور البيوض (Oogonia) في المبيض الأنثوي عند الإنسان إلى حد أعظمي قدره 6-7 مليون في الشهر الخامس من الحمل تقريباً. ويتناقص ذلك إلى نحو 2 مليون عند الولادة، ثم ينقص أكثر من ذلك إلى 100-200 ألف مع بدء الإحاضة. ويتطور من 400-500 منها إلى خلايا بيضية ناضجة؛ أما البقية فتتلاشى

تدريجياً بالرتق، وهي عملية تتدخل فيها الأندروجينات المبيضية. ويبدأ النضج الجريبي في سن الطفولة، ويتضخم المبيضان بالتدريج في السنوات قبل البلوغ، بسبب زيادة حجم الجريبات نتيجة نمو الخلايا الحبيبية، وبسبب تراكم النسيج من الجريبات المرتوقة، وزيادة كتلة النسيج السَّدوي (اللُحمي) اللبي مع الخلايا الخلالية والقرابية التي ستنتج الستيرويدات.

يكون تركيز الهرمونات الجنسية منخفضاً في الطفولة، على الرغم من أن موجهات الغدد التناسلية خارجية المنشأ تزيد الإنتاج؛ لذلك يتمتع المبيض غير الناضج بالقدرة على تخليق الإستروجين. ويعتقد أن هذه المستويات المنخفضة من الستيرويدات الجنسية تثبِّط إنتاج موجهات الغدد التناسلية عند الفتيات قبل البلوغ وأنه عند البلوغ تصبح جملة الوطاء ــ النخامى أقل حساسية للكبت. ويبدأ تحرر GnRH بشكل نبضي عند البلوغ بتنبيه LH وهذا يسبب ازدياداً مثيراً في الإنتاج الهرموني المبيضي. وينبه FSH، وهو المنبه الرئيسي لإفراز الإستروجينات، نضج جريب ومن ثم الإباضة.

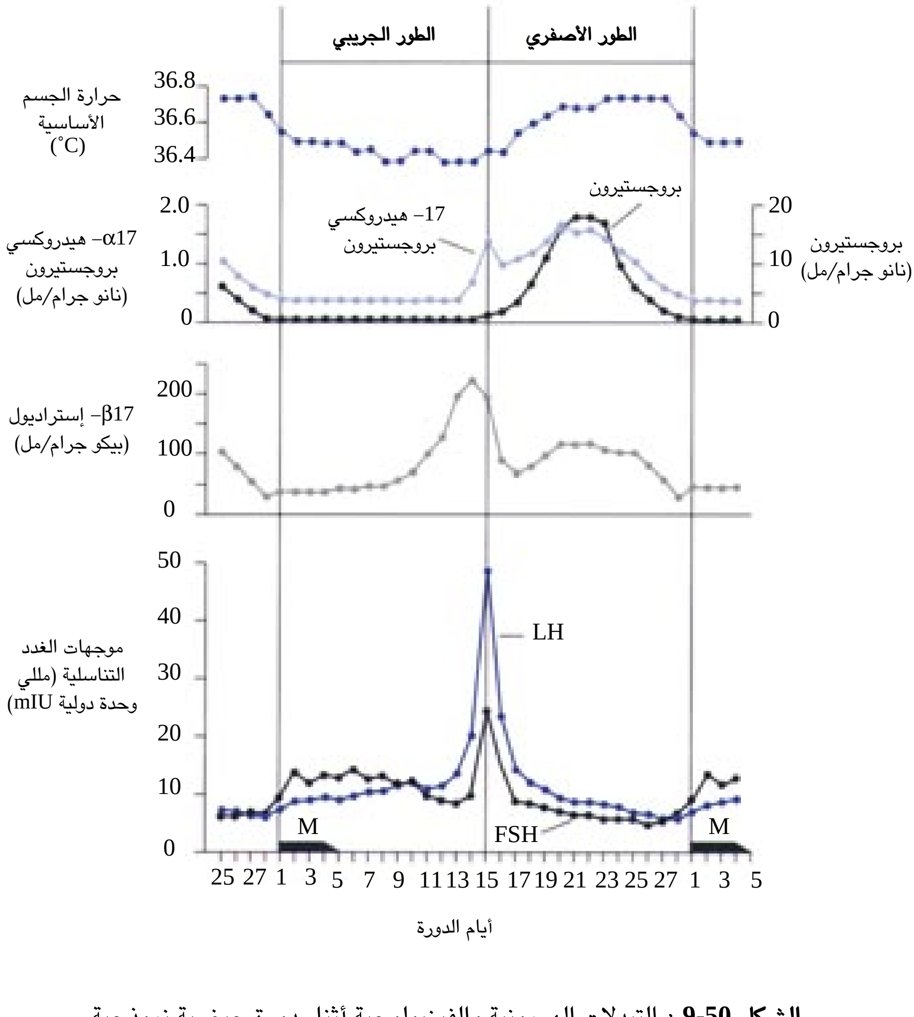
تعتمد الدورة الحيضية على تآثر معقد بين ثلاث غدد صم:

تحدد الهرمونات تواتر الإباضة وقابلية التزاوج. وتبيض الأنواع أحادية الودق (أحادية الدورة الحيضية: Monestrous) وتتزاوج مرة واحدة في السنة، في حين تتكرَّر هذه الدورة عدة مرات في السنة عند الأنواع متعددة الودق (Polyestrous). ويكون للرئيسيات دورات طمثية، مع انسلاخ بطانة الرحم في نهاية كل دورة. ولا يكون السلوك التزاوجي مقترناً على نحو وثيق بالإباضة. وتنجم الدورة الطمثية لدى الإنسان عن تآثرات معقدة بين الوطاء والنخامى والمبيض. وتتفاوت الدورة عادة في طولها ما بين 25 و 35 يوماً (28 يوماً وسطياً). ويمكن تقسيم الدورة إلى طور جريبي وطور أصفري وحيض (طمث) (الشكل 50-9).

أ– الطور الجريبي: لأسباب غير واضحة، يبدأ جريب مفرد بالتضخم تحت التأثير العام للـ FSH. وتكون مستويات E_2 منخفضة في أثناء الأسبوع الأول من الطور الجريبي، لكنها تبدأ بالارتفاع بالتدريج مع تضخم الجريب. ويصل E_2 لمستواه

الأعظمي قبل 24 ساعة من ذروة FSH; LH، ويحسس النخامى لـ GnRH. ويتحرر LH إما استجابة لهذا المستوى المرتفع من E_2 بطريقة التلقيم الراجع الإيجابي أو استجابة للانخفاض المفاجئ في E_2 من هذا المستوى المرتفع. ويؤدي الإعطاء المستمر لجرعات عالية من الإستروجين (كما في مانعات الحمل الفموية) إلى كبت تحرير LH و FSH ولتثبيط فعل GnRH في النخامية. وتكون مستويات البروجسترون منخفضة جداً خلال الطور الجريبي. وتنذر ذروة الـ LH بنهاية الطور الجريبي، وهي تسبق الإباضة بنحو 16-18 ساعة.

ب – الطور الأصفري: تَتَلَوْتن خلايا الجريب الممزق الحبيبة بعد الإباضة، وتشكل الجسم الأصفر، وهو بنية تبدأ مباشرة بإنتاج البروجسترون وبعض الإستراديول. ويصل الإستراديول إلى ذروته في منتصف الطور الأصفري ثم يهبط إلى مستوى منخفض جداً. ويعد البروجسترون الهرمون الرئيسي للجزء الأصفري من الدورة، وهو (كما لاحظنا سابقاً) ضروري لتهيئة البطانة الرحمية الإفرازية والحفاظ عليها والتي تؤمن الاغتذاء الباكر للكيسة الأريمية المنغرسة. ويلزم LH للمحافظة منذ البداية على الجسم الأصفر، حيث تفرزه النخامية لمدة 10 أيام تقريباً. وإذا حدث الانغراس (الأيام 22-24 من الدورة العادية)، فإن وظيفة LH هذه تقوم بها موجهة الغدد التناسلية المشيمائية (hCG)، وهي هرمون مشيمي يشابه كثيراً LH ويصنع في خلايا الأرومة الغاذية الخلوية في المضغة الباكرة المنغرسة. وينبه hCG تخليق البروجسترون من الجسم الأصفر إلى أن تبدأ المشيمة بصنع كميات كبيرة من هذا الستيرويد. وعند عدم حدوث الانغراس (وغياب hCG)، يتراجع الجسم الأصفر ثم يحدث الحيض؛ وتنسلخ بعد ذلك بطانة الرحم، وتأتي دورة جديدة. وتكون فترة الطور الأصفري 14 ± 2 يوماً دائماً. وتنجم الاختلافات في طول الدورة دائماً تقريباً عن تبدل في الطور الجريبي.



الشكل 9-50 : التبدلات الهرمونية والفيزيولوجية أثناء دورة حيضية نموذجية عند الإنسان. (M: الحيض؛ IRP-hMG: المعيار المرجعي الدولي لموجهات الغدد التناسلية).

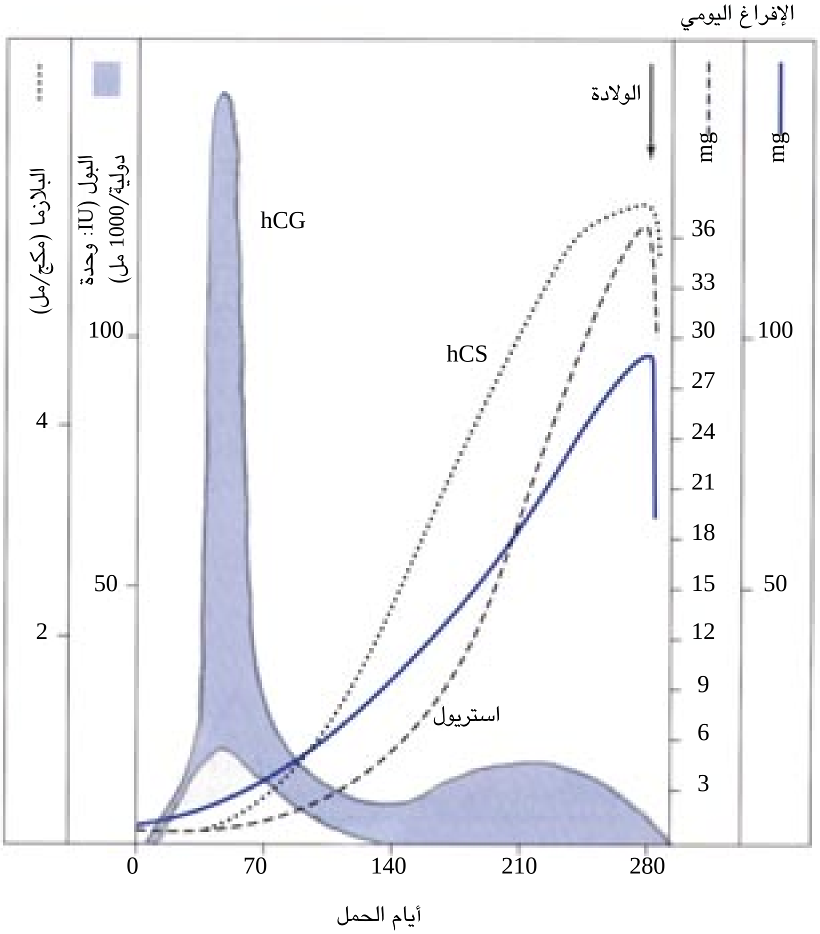
تحافظ الهرمونات المشيمية على الحمل:

تشكل الكيسة المنغرسة الأرومة الغاذية، التي تتعضى بعد ذلك لتشكل المشيمة. وتؤمن المشيمة التواصل التغذوي بين المضغة والدوران الأمومي، وتنتج عدداً من الهرمونات.

أ – موجهة الغدد التناسلية المشيمائية البشرية (hCG): إن الوظيفة الرئيسية للهرمون البروتيني السكري hCG (لقد ناقشنا التشابه البنيوي بين hCG و LH في الفصل 45) هي دعم الجسم الأصفر إلى حين قيام المشيمة بإنتاج كميات كافية من البروجسترون لدعم الحمل. ويمكن كشف hCG خلال بضعة أيام من الانغراس، وهذا ما يوفر الأساس لاختبارات التشخيص الباكرة للحمل. وتصل مستويات hCG ذروتها في منتصف الثلث الأول، وبعد ذلك تأخذ في الانخفاض التدريجي خلال ما تبقى من الحمل. ويوضح (الشكل 50-10) التغيرات في الـ hCG ومستويات الهرمونات الأخرى أثناء الحمل.

ب – البروجستينات: يعد الجسم الأصفر المصدر الرئيسي للبروجسترون في الأسابيع 6-8 الأولى من الحمل، ثم تقوم المشيمة بهذه الوظيفة. ويستمر الجسم الأصفر في وظيفته، لكن تقوم المشيمة في وقت متأخر من الحمل بصنع البروجسيرون بمقدار يزيد 30-40 ضعفاً عن الذي يفعله الجسم الأصفر. ولا تُخَلِّق المشيمة الكوليسترول وبذلك فهي تعتمد على الإمداد الأمومي.

جـ – الإستروجينات: تزداد التراكيز البلازمية لكل من الإستراديول والإسترون والإستريول تدريجياً خلال الحمل. وينتج الإستريول بأعلى كمية، ويعكس تشكيله جزءاً من الوظائف الجنينية المشيمية. فالكظر الجنيني الـ DHEA وسلفات الـ DHEA، اللذين يتحولان إلى مشتقات α16– هيدروكسي بوساطة الكبد الجنيني. وتتحول هذه المركبات إلى الإستريول بوساطة المشيمة؛ وتغادر عبر الدوران المشيمي إلى كبد الأم، حيث تقترن بالجلوكورونيدات، ثم تُفرغ في البول (الشكل 50-11). ويستخدم قياس مستويات الإستريول البولية لتسجيل وظيفة عدد من العمليات الأمومية ـ الجنينية.

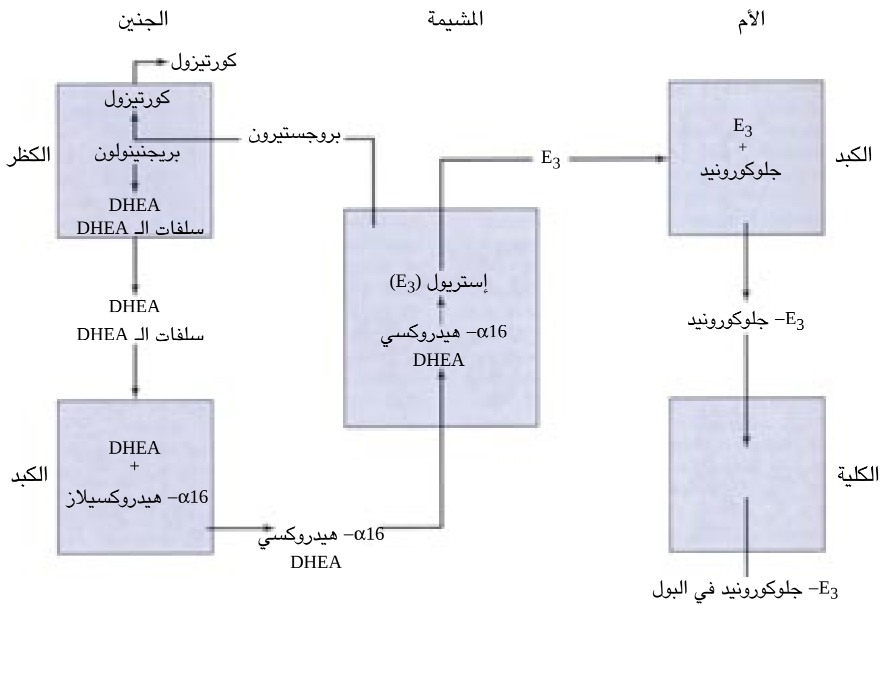


الشكل 10-50 : المستويات الهرمونية في أثناء الحمل السوي. (hCG: موجهة الغدد التناسلية المشيمائية البشرية، hCS: الموجهة الثديية الجسدية المشيمائية البشرية).

من الضروري حصول تبادل مهم آخر للركائز أي (للمواد الخاضعة لفعل الخمائر)، لإنتاج الكورتيزول الجنيني. ويفرز كظر الجنين معقد إيزوميراز $\Delta^{5.4}$ نازعة هيدروجين 3β– هيدروكسي الستيرويد بمستويات منخفضة جداً، ويكبح هذا

الإنزيم بالإستراديول، الذي يبقي هذا الإنزيم بحالة التوقف عن العمل بشكل فعال. لذلك يعتمد الكظر على المشيمة للحصول على البروجسترون اللازم لتخليق الكورتيزول (الشكل 50-11).

د – محفِّزَات الإلبان المشيمية: تصنع المشيمة هرموناً يدعى محفز الإلبان المشيمائي (PL) ويطلق على PL أيضاً الموجهة الجسدية الثديية المشيمائية أو هرمون النمو المشيمي، لأنه يتمتع بخصائص البرولاكتين وهرمون النمو البيولوجية. وقد ناقشنا العلاقة الوراثية لهذه الهرمونات في الفصل 45. وما تزال الوظيفة الفيزيولوجية لـ PL غير مؤكدة، لأنه يبدو أن النساء اللواتي يفتقرن إلى هذا الهرمون تكون لديهن حمول طبيعية ويلدن أطفالاً أسوياء.



الشكل 50-11 : أيض الستيرويدات بوساطة الوحدة الجنينية ـ الأمومية.
(DHEA: إيبي أندروستيرون منزوع الهيدروجين).

محرض الولادة غير معروف:

يدوم الحمل عدداً محدداً مسبقاً من الأيام لكل نوع، لكن العوامل المسؤولة عن إنهائه غير معروفة. ويشتبه بدور التأثيرات الهرمونية في ذلك ولكنها غير مثبتة. حيث أن الإستروجينات والبروجستينات مرشحان لذلك، لأنهما يؤثران في القلوصية الرحمية، وتوجد أدلة على أن الكاتيكولامينات تتدخل في تحريض المخاض. ونظراً لأن الأوكسيتوسين (Oxytocin) ينبه القلوصية الرحمية، فهو يستخدم في تسهيل الولادة، لكنه لن يباشر المخاض ما لم يكن الحمل قد استكمل تماماً. ويكون هناك من مستقبلات الأوكسيتوسين في الرحم عند نهاية الحمل ما يزيد على 100 ضعف ما هي عليه في بداية الحمل.

يمكن للكمية الزائدة من الإستروجين في نهاية الحمل أن ترفع عدد مستقبلات الأوكسيتوسين (الفصل 45). وحالما يبدأ المخاض، يتوسع عنق الرحم مطلقاً منعكساً عصبياً ينبه تحرر الأوكسيتوسين وبالتالي المزيد من التقلص الرحمي. والعوامل الميكانيكية، مثل درجة التمدد أو القوة الواقعة على العضلة قد تكون مهمة. ويحدث عند الولادة تغير مفاجئ ومثير في الوسط الهرموني عند كل من الأم والوليد، وتهبط بسرعة المستويات البلازمية لكل من البروجسترون (المقاس على هيئة بريجنانيديول) والإستريول بعد نزول المشيمة (الشكل 50-10).

يتم تنبيه نمو الغدد الثديية بالإستراديول والبروجسترون والإرضاع بالبرولاكتين:

يجري تنظيم تمايز الغدة الثديية ووظيفتها بالفعل الجماعي المتناغم لعدد من الهرمونات. وتستهل الهرمونات الجنسية الأنثوية هذه العملية، لأن الإستروجينات مسؤولة عن نمو القنوات وتنبه البروجستينات التكاثر السنخي. ويحدث بعض النمو في النسيج الغدي خلال البلوغ، مع ترسب النسيج الشحمي، لكن يحدث أيضاً نمو واسع خلال الحمل عندما يتعرض النسيج الغدي لتراكيز مرتفعة من الإستراديول والبروجسترون. ويحتاج التمايز الكامل، الذي درس في المقام الأول في محضرات نسيجية لغدة الثدي عند الفأر إلى الفعل الإضافي للبرولاكتين، أو القشرانيات

السكرية (جلوكوكورتيكوايدت Glucororticoids) أو الإنسولين أو ببتيد النمو، ولعامل مصلي غير محدد. ومن بين هذه الهرمونات، يتغير تركيز البرولاكتين فقط بشكل مثير في الحمل؛ وهو يزداد من أقل من 2 نانو جرام/د.ل إلى أكثر من 200 نانو جرام/ د.ل في الحمل. ولقد درست بمزيد من التفصيل تأثيرات هذه الهرمونات في تخليق مختلف بروتينات الحليب المتعددة بما في ذلك ألبومين اللبن، وجلوبلين اللبن والكازين. حيث تقوم هذه الهرمونات بزيادة معدل تخليق هذه البروتينات عن طريق زيادة كميات mRNAs النوعية، وينجم ذلك، في حالة الكازين على الأقل، عن زيادة الانتساخ الجيني وعن تثبيت الـ mRNA.

يثبط البروجسترون، اللازم للتمايز السنخي، إنتاج الحليب وإفرازه في نهاية الحمل. ويبدأ الإرضاع عندما تتناقص مستويات هذا الهرمون على نحو مفاجئ بعد الولادة. وتهبط أيضاً مستويات البرولاكتين بسرعة بعد الوضع، لكنها تتنبه بكل حادثة رضاع (انظر الفصل 45)، وبذلك يُضمن الإرضاع المستمر. ويتناقص الإرضاع تدريجياً إذا لم يسمح بالرضاع ويمكن أن ينتهي بسرعة عند إعطاء جرعة كبيرة من الأندروجين حقناً قبل السماح بالرضاع.

يؤدي الرضاع أيضاً إلى تحرر الأوكسيتوسين من النخامية الخلفية. وينبه الأوكسيتوسين تقلص الخلايا العضلية الظهارية التي تحيط بالقنوات السنخية، وبذلك يقذف الحليب من الغدة. وقد ناقشنا في الفصل 45 تنظيم تخليق الأوكسيتوسين وإفرازه.

يكون الإياس تاماً بتوقف إنتاج المبيض للإستروجين:

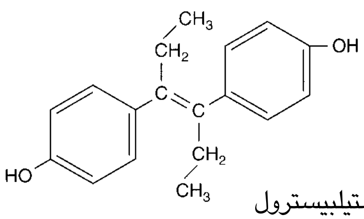
تنقطع الدورات الحيضية المنتظمة بعمر 53 سنة تقريباً عند النساء في نصف الكرة الغربي، ويتزامن ذلك مع فقدان كافة الجريبات وتوقف إنتاج الإستروجين في المبيض. ولا يوجد مصدر بديل للبروجسترون، لكن يجري إنتاج كميات كبيرة من إستروجين ضعيف، هو الإسترون، بوساطة أرمتة الأندروستينيديون في المحيط (الشكل 50-7). ولا تكون مستويات الإسترون كافية لكبت مستويات موجهات الغدد التناسلية النخامية؛ لذلك فإن الزيادات الملحوظة في LH و FSH تكون مميزة في

السنوات بعد الإياس. وقد يسهم الـ GnRH أيضاً في بدء الإياس. وهذا قد يكون ناجماً عن تغيرات في المستوى المطلق للهرمون أو عن تغيرات في دورية إفرازه. فعلى سبيل المثال، لا تقوم مبايض الجرذان الصغار، التي تملك الكثير من الجريبات، بوظيفتها جيداً عند وضعها في حيوانات متقدمة في العمر. وبالمثل، تستأنف المبايض المأخوذة من حيوانات كهلة بعض إنتاج الـ E_2 عندما توضع في جرذان فتية.

تكون النساء بعد سن اليأس معرضات بشكل خاص لمشكلتين مترافقتين مع التقويض النسيجي. حيث لا يكون الإسترون قادراً دائماً على منع ضمور الأنسجة الجنسية الثانوية، بخاصة ظهارة السبيل البولي السفلي والمهبل. ويعد تخلخل العظام مشكلة صحية رئيسية عند الأفراد المتقدمين في السن، وتكون مستويات الإسترون أخفض من السوية عند النساء اللاتي عندهن نقص شديد في الكتلة العظمية.

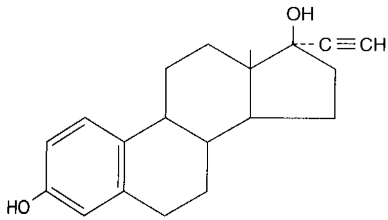
تعزز النواهض والضواد الصنعية الإخصاب وتمنعه وتقوم بتثبيط النمو الورمي:

أ – الإستروجينات: يتمتع عدد من المركبات الصنعية بفعالية إستروجينية وبواحدة أو أكثر من المظاهر الدوائية الإيجابية. وتختص معظم التعديلات بإعاقة الأيض الكبدي، بحيث يمكن إعطاء المركبات فموياً. ويعد ثنائي إيثيل الستيلبسترول (Diethylstilbestrol) واحداً من أول المركبات التي ظهرت. وتضم الأمثلة الأخرى للستيرويدات المعدلة كل من 17α – إيثينيل إستراديول والمسترانول (Mestranol)، اللذين يستخدمان في مانعات الحمل الفموية.

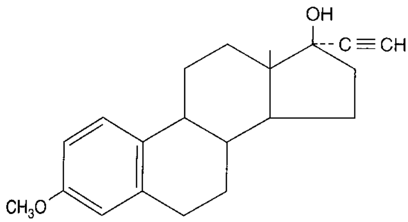


1– ثنائي إيثيل ستيلبيسترول

تم تخليق مركبات متعددة ذات فعالية مضادة للإستروجين، وتبين أن للعديد منها تطبيقات سريرية. وتعمل معظم هذه الضواد عن طريق منافسة الإستراديول على مستقبله داخل الخلوي (انظر فيما بعد).

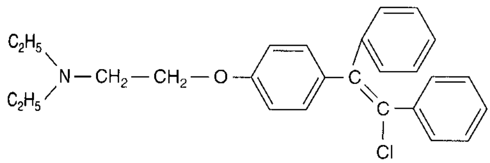


α17– إيثينيل إستراديول



ميسترانول

تمتلك سترات الكلوميفين (الكلوميد) ألفة خاصة تجاه مستقبل الإستروجين في الوطاء. وقد كان الكلوميفين مخصصاً في البداية كدواء مضاد للخصوبة، لكنه يستخدم الآن وبشكل مثير للدهشة للحصول على تأثيره المضاد. حيث يتنافس الكلوميفين مع الإستراديول على المواضع المستقبلة في الوطاء؛ لذلك لا يكون تحرر GnRH مقيداً وتتحرر كميات زائدة من LH و FSH. وغالباً ما تنضج جريبات عديدة في وقت واحد استجابة للكلوميفين، ويمكن أن تحدث حمول متعددة. ويشترك كل من النافوكسيدين (Navoxidine)، وهو مركب غير ستيرويدي، والتاموكسيفين (Tamoxifin) بمستقبل الإستروجين لتشكيل معقدات مستقرة جداً مع الكروماتين؛ وبالتالي لا يستطيع المستقبل إعادة دورته، وتثبط هذه العوامل فعل الإستراديول لفترات طويلة. وتستخدم هذه الضواد في معالجة سرطان الثدي المعتمد على مستقبلات الإستروجين.

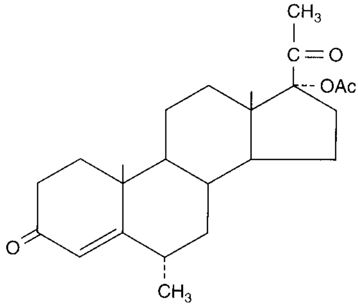


1– سيترات الكلوميفين

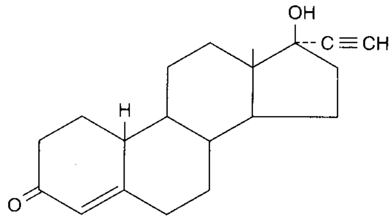
هناك صف (صنف) جديد من المركبات، تدعى معدلات مستقبلات الإستروجين الانتقائية (sERMs) تظهر فعاليتها الإستروجينية الناهضة (الشادة) في بعض الخلايا المستهدفة، في حين أنها تعمل كضواد في أماكن أخرى. ويحاكي العامل الأول من هذا الصف (الصنف) من العوامل العلاجية الفعل الابتنائي للإستروجينات في العظم. من دون التأثير في الأنسجة التوالدية. لذلك فهي مفيدة في معالجة تخلخل العظام. ويمكن لهذا الأسلوب الانتقائي أن يثبت فائدته في المعالجة الموجهة نحو صفوف أخرى من المستقبلات الستيرويدية.

ب – **البروجستينات:** اتضح أنه من الصعب تخليق مركبات ذات فعالية بروجستينية لكن من دون فعل إستروجيني أو أندروجيني إلا أن مشتقات 19– نورتستوستيرون المستبدلة بالألكيل α17 (مثل النوريثيندرون Norethindrone) هي ذات فعالية أندروجينية في الحد الأدنى عند معظم النساء. وهي تستخدم في مانعات الحمل الفموية. وهناك بروجستين قوي آخر هو أسيتات ميدروكسي البروجسترون (البروڤيرا: Provera). حيث يثبط ميدروكسي البروجستيرون الإباضة لعدة أشهر عندما يعطى كحقنة مدخرة في العضل.

لكن نظراً لأن البروجستينات تثبط النمو الخلوي فإن هذا المركب يستخدم بشكل أكثر تواتراً لمعالجة سرطانة بطانة الرحم جيدة التمايز.



1– أسيتات ميدروكسي بروجستيرون



1– نور إيثيندرون

تنظم الإستروجينات والبروجسترونات التعبير الجيني

تعمل هذه الهرمونات من خلال قدرتها على الارتباط بمستقبلات داخل الخلية، والتي ترتبط بعد ذلك بمناطق نوعية في الكروماتين أو في الدنا (DNA) (أو كليهما) لإحداث تبدلات في معدل انتساخ جينات معينة. وقد تم الحصول على الكثير من المعلومات من تحليل الأسلوب الذي ينبه به الإستراديول والبروجسترون انتساخ جينات البروتين الأبيض في بيوض الطيور، بخاصة ألبومين البيض (Ovalbumin) والكونألبومين (Conalbumin). ومايزال تحديد كيف تقوم هذه الهرمونات بالضبط بتنشيط الانتساخ الجيني خاضعاً لاستقصاء مكثف.

مستقبلات الإستروجين والبروجسترون جزء من عائلة جينية:

لقد جرى تحديد التسلسل في مستقبلات الإستروجينات (ER) والبروجستينات (PR) من خلال تحليل تسلسلات cDNA الموافقة. وتعد هذه المستقبلات جزءاً من فصيلة جينات المستقبلات الخاصة بالهرمونات الستيرويدية والدرقية التي ناقشناها في (الفصل 48). وكما هو الحال مع مستقبل الأندروجين، هناك شكلان من ER (α و β) و PR (A وB) حيث أن ER_α و ER_β هما نواتج جينين منفصلين. أما PRA و PRB فهما من الجين ذاته، لكن مع معززين مختلفين. وكما هو مبين في (الشكل 44-3)، يكون لكل مستقبل عدة مناطق وظيفية. وترتبط الستيرويدات بمقر اللجين في الجزء الطرفي الكربوكسيلي من الجزيء المستقبل. وهذا يسبب تبدلاً انطباقياً في

الهيئة الفراغية مما يسمح بارتباط المستقبل مع الـ DNA وتقوم منطقة ارتباط الدنا (DNA) في ER بالتعرف على التسلسل AGGTCANNNTG$^{A}_{T}$CCT (عنصر الاستجابة للإستروجين أو ERE). في حين تتعرف المنطقة المطابقة في الـ PR على التسلسل GGTACANNNTGTTCT، أي PRE. ويسمح التفاعل بين مستقبل والدنا (DNA) لمناطق تنشيط عبوري مختلفة في كل مستقبل بالتأثير في فعالية الجينات المجاورة لعناصر الاستجابة الهرمونية. وتؤدي زيادة (أو نقصان) فعالية جينات معينة إلى تبدل في معدلات تخليق بروتينات نوعية، وينتهي هذا بتغير الاستجابات الأيضية.

بعض النقاط تستحق الملاحظة التالية، التي قد يكون لها تطبيق على آلية عمل هرمونات أخرى:

(1) يوجد تواصل واضح بين مستقبلات الهرمونات الجنسية. فالبروجسترون يرتبط بمستقبلة الأندروجين فيكون بذلك أندروجيناً ضعيفاً؛ وترتبط بعض الأندروجينات؛ بمستقبل الإستروجين فتحاكي فعل هذا الأخير في الرحم. وبتفحص (الشكل 44-3) يظهر لنا التشابه الوثيق في التسلسلات اللبية لعناصر الاستجابة الهرمونية. وهذا قد يفسر لماذا تمارس بعض الهرمونات أفعالاً عبورية في حالات معينة.

(2) تزيد الإستروجينات تركيز كل من مستقبلة الإستروجين ومستقبلة البروجسترون.

(3) يبدو أن البروجسترون يعزز معدل تقلب مستقبلتة.

(4) تعمل الإستروجينات الضعيفة، كما يطلق عليها، كالإستريول، كإستروجينات قوية عندما تعطى بشكل متكرر.

(5) يكون للأشكال المختلفة من الـ ER تأثيرات انتقائية في أنسجة مختلفة.

للهرمونات علاقة بالفيزيولوجية المرضية للجهاز التوالدي الأنثوي:

إن مناقشة جميع الاضطرابات التي تؤثر في الجهاز التوالدي الأنثوي تقع خارج نطاق هذا الفصل، لكن فيما يلي بضعة اضطرابات توضيحية. حيث ينجم قصور الغدد التناسلية الأولي (Primary Hypogonadism) عن عمليات تضم بشكل مباشر المبيضين لذلك فهي تسبب قصوراً مبيضياً (نقص الإباضة أو نقص الإنتاج الهرموني أو كليهما)، في حين ينتج قصور الغدد التناسلية الثانوي عن فقدان وظيفة موجهات الغدد التناسلية النخامية. أما خلل تكون الغدد التناسلية (Gonadal Dysgenesis) متلازمة تيرنر (Turner's) فهو اضطراب وراثي شائع نسبياً، يكون فيها لدى الأفراد النمط النووي XO وأعضاء تناسلية أنثوية داخلية وخارجية، وعدة شذوذات في النمو وبلوغ متأخر.

تتعلق عدة متلازمات بوجود كميات غير سوية من الهرمونات. وأكثرها شيوعاً متلازمة المبيض متعدد الكيسات (متلازمة شتاين ـ ليڤنثال Stein-Leventhal)، التي يسبب فيها فرط إنتاج الأندروجيات حدوث الشعرانية (Hirsutism) والبدانة وحيضاً غير منتظم واضطراباً في الإخصاب. وتنتج كل من أورام خلايا ليديج النادرة والمذكاروم (Arrhenoblastoma :الورم المذكر) هرمون التستوستيرون؛ في حين تنتج أورام الخلايا الحبيبية القرابية الإستروجينات؛ وتنتج الأعشاش الكظرية داخل المبيضية الكورتيزول. ويؤدي نسيج الأرومة الغاذية المستمر إلى الرحى العدارية (Hydatidiform Mole) الحميدة أو لاستحالتها الخبيثة إلى السرطانة المشيمائية (Choriocarcinoma)؛ وكلاهما ينتج كميات هائلة من hCG. وتكون المقايسة المناعية الشعاعية لـ hCG اختباراً تشخيصياً لهاتين الحالتين الخطيرتين، ويمكن استخدامها أيضاً في مراقبة فعالية العلاج.

الخلاصة:

تنتج الغدد التناسلية الخلايا الجنسية والهرمونات الجنسية. وهاتان الوظيفتان متقاربتان بالضرورة بالنسبة للمكان (يجري تكون النطاف وإنتاج التستوستيرون

في الخصيتين، وتكون البيوض وإنتاج الإستراديول في المبيض) لأن نضج الخلايا الجنسية يستلزم تركيزاً موضعياً عالياً من الهرمون الجنسي المسؤول.

يرتبط LH بمستقبلته على السطح الخلوي لخلايا ليديج (الخصيتين) والخلايا الحبيبية والقرابية (المبيض). وتؤدي الزيادة الناتجة في cAMP إلى إزالة السلسلة الجانبية من الكوليسترول، مثلما هو الحال في حالة قشر الكظر، وهي الخطوة المحددة للمعدل في التركيب الحيوي للستيرويدات. وتؤدي سلسلة من التفاعلات الإنزيمية، بخاصة تلك المحفزة بنازعة هيدروجين β3 – هيدروكسي الستيرويد، إلى إنتاج التستوستيرون في الخصى. وتتحول كميات قليلة من التستوستيرون إلى الإستراديول بتأثير الأروماتاز. ويكون هذا التفاعل أكثر قوة في المبيض، حيث يكون الإستراديول هو الهرمون الأساسي المنتج في أثناء الطور الجريبي من الدورة الحيضية. وبعد حدوث الإباضة، يجري صنع البروجسترون في الخلايا الجريبية، التي تكون الآن الجسم الأصفر. ويعد البروجستيرون الهرمون الرئيسي المساهم في تثبيت الحمل. وهو يصنع أولاً في الجسم الأصفر تحت تأثير LH النخامى وفيما بعد بتأثير hCG من المشيمة. وبعد الشهر الثاني من الحمل، تقوم المشيمة بصنع البروجسترون مباشرة. ويؤدي انقطاع إنتاج أو غياب فعل البروجسترون إلى توقف الحمل.

تعمل الهرمونات الجنسية، باعتبارها أعضاء في عائلة الستيرويد/الدرقية/الريتينويد، عن طريق الارتباط بمستقبلاتها المطابقة في الخلايا الهدفية. وترتبط معقدات لجين ـ مستقبل بعنصر الاستجابة للأندروجين أو للإستروجين أو للبروجسترون في معزاز للجينات الهدفية. وهذا يؤدي إلى زيادة (أو نقصان) فعالية هذه الجينات. وتتأثر عدة عمليات أيضية وتوالدية وتلك المتعلقة بالنمو وفقاً لهذا الأسلوب.

*** References:**

Auchus RJ et al: The regulation of human P450C17 activity: Relationship to premature adrenarche, insulin resistance and the polycystic ovary syndrome. *Trends Endocrinol Metab* 1998;9:47.

Celis L et al: Proteins interacting with an androgen-responsive unit in the C3(1) gene intron. *Mol Cell Endocrinol* 1993;94:165.

Clark JH, Shilaja KM: Actions of ovarian steroid hormones. In: *The Physiology of Reproduction*, 2nd ed. Vol 1. Knobil E, Neill JD (editors). Raven, 1994.

deJong FH: Inhibin. *Physiol Rev* 1988;68:555.

Griffen JE et al. The androgen resistance syndromes. In: *The Molecular and Metabolic Bases of Inherited Disease,* 7th ed. Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 1995.

Huggins C: Two principles in endocrine therapy of cancer: Hormone deprival and hormone interference. *Cancer Res* 1965;25:1163.

Kuiper GGTM, Gustafsson J-A: The novel estrogen receptor-β subtype: Potential role in the cell and promoter-specific actions of estrogens and antiestrogens. *FEBS Letters* 1997;410:87.

McEwen BS: Steroid hormones are multifunctional messengers to the brain. *Trends Endocrinol Metab* 1991; 2:62.

Miller WL: Molecular biology of steroid hormone biosynthesis. *Endocr Rev* 1988;9:295.

Paech K et al: Differential ligand activation of estrogen receptors ERα and ERB at API sites. *Science* 1997; 277: 1508.

Russell DW, Wilson JD: Steroid 5α-reductase: Two genes/two enzymes. *Annu Rev Biochem* 1994;63:25.

Shafer AJ, Goodfellow PN: Sex determination in humans. *Bioessays* 1996;18:955.

الفصل الحادي والخمسون

هرمونات البنكرياس والسبيل المعدي المعوي

Hormones of the Pancreas and Gastrointestinal Tract

الاختصارات المستخدمة في هذا الفصل

الهرمون الموجه لقشر الكظر	ACTH
الكولي سيستوكينين	CCK
عامل النمو البشروي	EGF
عامل نمو الأرومات الليفية	FGF
عديد الببتيد المثبِّط المعدي	GIP
عامل النمو الشبيه بالإنسولين	IGF
البروتينات الشحمية خفيضة الكثافة	LDL
الداء السكري المعتمد على الإنسولين	IDDM
الداء السكري غير المعتمد على الإنسولين	NIDDM
عامل النمو المشتق من الصفيحات	PDGF
كربوكسي كيناز الفسفوإينول بيروفات	PEPCK
البروستاجلاندين $F_{2\alpha}$	$PGF_{2\alpha}$
عديد الببتيد البنكرياسي (البنكرياسي)	PP
عديد الببتيد المعوي الفعال في الأوعية	VIP
البروتينات الشحمية وضيعة الكثافة	VLDL

مقدمة:

يتألف البنكرياس من أعضاء شديدة الاختلاف موجودة ضمن بنية واحدة. ويكون للجزء العنيبي من البنكرياس وظيفة خارجية الإفراز (Exocrine)، التي تفرز في تجويف الإثنا عشري الإنزيمات والأيونات المستخدمة في العملية الهضمية. ويتألف الجزء الصماوي (Endocrine) من جزيرات لنجرهنز (Langerhans) حيث يشكل 1-2 مليون جزيرة من البنكرياس الآدمي نحو 1-2٪ من وزنه وهي تجمعات من أنماط متعددة ومختلفة من الخلايا يعرضها (الجدول 51-1).

تفرز الجزيرات البنكرياسية أربع هرمونات على الأقل هي: الإنسولين والجلوكاجون والسوماتوستاتين وعديد الببتيد البنكرياسي وتتحرر الهرمونات إلى الوريد البنكرياسي الذي يفرغ بدوره في الوريد البابي وهذا هو الترتيب المألوف، لأن الكبد هو المقر الأولي لفعل الإنسولين والجلوكاجون. ويشترك هذان الهرمونان بشكل رئيسي في تنظيم أيض السكريات لكنهما يؤثران في العديد من العمليات الأخرى. ويوجد السوماتوستاتين، وهو الذي جرى تحديد هويته للمرة الأولى في الوطاء كهرمون يثبِّط إفراز هرمون النمو، بتراكيز مرتفعة في الجزيرات البنكرياسية أكثر من الوطاء وهو يسهم في التنظيم الموضعي لإفراز الإنسولين والجلوكاجون. ويؤثر عديد الببتيد البنكرياسي في الإفراز المعدي المعوي.

النمط الخلوي	الوفرة النسبية	الهرمون المنتج
A (أو α)	25 ٪ تقريباً	الجلوكاجون
B (أو β)	70٪ تقريباً	الإنسولين
D (أو δ)	أقل من 5٪	السوماتوستاتين
F	زهيدة	عديد الببتيد البنكرياسي

الجدول 51-1: الأنماط الخلوية في جزيرات لنجرهنز.

يفرز السبيل المعدي المعوي العديد من الهرمونات، ربما أكثر من أي عضو مستقل آخر وتكون غاية السبيل المعدي المعوي هي دفع المواد الغذائية إلى مواقع الهضم، وتأمين الوسط المناسب (الإنزيمات والباهاء pH والملح... إلخ) للعمليات الهضمية، وتحريك نواتج الهضم عبر المخاطية المعوية من خلال خلايا المخاطية ونحو الحيز خارج الخلوي، وتحريك تلك النواتج إلى الخلايا البعيدة عن طريق الدوران، وطرد الفضلات. وتساعد الهرمونات المعدية المعوية في جميع هذه الوظائف.

الأهمية الطبية البيولوجية:

يعد الإنسولين هرموناً ببتيدياً نموذجياً من أوجه عديدة، كونه الأول الذي جرت تنقيته وبلورته وتخليقه بالتقانات الكيميائية والبيولوجية الجزيئية. وقادت الدراسات التي اهتمت بتخليقه الحيوي إلى المفهوم المهم حول طليعة الببتيد. وللإنسولين مضامين طبية مهمة. ففي البلدان المتطورة يبلغ معدل حدوث الداء السكري 5٪، ويكون عدد مماثل قابلا للإصابة بالمرض. وينجم الداء السكري عن عدم كفاية فعل الإنسولين إما بسبب غيابه أو مقاومة تأثيره. ويزيد الجلوكاجون هذه الحالة سوءاً، عندما يعمل من دون معارضة.

لقد تم وصف متلازمات مرضية ناجمة عن إنتاج مفرط لعدد من الهرمونات المعدية المعوية. وغالباً ما تشمل العلامات والأعراض العديد من الجمل العضوية، ويمكن أن يكون التشخيص الدقيق صعباً ما لم يكن الطبيب مطلعاً على هذه المتلازمات. وتكون الهرمونات المعدية المعوية مهمة أيضاً بسبب ارتباطها الوثيق بالببتيدات العصبية.

هرمونات البنكرياس هي الإنسولين والجلوكاجون والسوماتوستاتين وعديد الببتيد البنكرياسي:

ارتبط الإنسولين بالداء السكري في عام 1921:

حدد لنجرهنز هوية الجزيرات في الستينات من القرن التاسع عشر، لكنه لم

يفـهم وظيـفـتـهـا، وكـذلك فـعل مـيـرنـج (Mering) ومنكوڤسكي (Minkowski)، الذي أوضح في عـام 1889 أن اسـتـئـصـال البنكرياس يؤدي إلى الداء السكري. وقـد اقترحت الرابطة بين جزيرات لنجرهنز وداء السكري من قبل دو ماير(de Mayer) عـام 1909، وشـاربي ـ شـافـر (Sharpey-Schaffer) عـام 1917، لكن كـان بانتـينج (Banting) وبست (Best) هما اللذان أثبتا هذه العلاقة في عام 1921. وقد استخدم هؤلاء البـاحـثـون الإيثـانول الحـمـضـي لاسـتـخـلاص العـامل الخلوي الجـزيري من النسيج والذي يتمتع بفعالية خافضة لسكر الدم. وقد أطلق على هذا العامل اسم «الإنسولين»، وتبين بسرعة أن الجزيرات عند البقر والخنزير تحوي إنسولينا يكون نشيطاً في الإنسان. وخلال سنة، انتشر استخدام الإنسولين لمعالجة الداء السكري وثبت فعلا أنه منقذ للحياة.

كـان للحـصـول على كـمـيـات كـبـيـرة من الإنسـولين البـقـري والخنزيري من أجل الدراسة، تأثير مثير على حد سواء في الأبحاث الطبية الحيوية. وكان الإنسولين البروتين الأول الذي برهن أن له فعلاً هرمونياً، وأول بروتين تمت بلّورته (آبل Abel، 1926)، والبـروتين الأول الذي جـرت سلسلتـه (سـانجـر Sanger وزمـلاؤه، 1955)، وأول بروتين أمكن تخليقـه بالتـقـانات الكيـمـيـائيـة (ديو Du، وزمـلاؤه، وزان Zahn وكاتسويانيس Katsoyanis، 1964)، وأول بروتين تبين أنه يخلق كجزيء طليعي كبير (شتـاينر Steiner وزملاؤه، 1967)، وأول بروتين تم تحضيره للاستخدام التجاري بتقنية الدنا DNA المأشوب. وعلى الرغم من هذه القائمة المؤثرة من «الأوائل» فإن ما هو معروف عن كيف يعمل الإنسولين على المستوى الجزيئي أقل مما هو معروف حول كيف تقوم أغلب الهرمونات الأخرى بعملها.

الإنسولين هو عديد ببتيد مثنوي متغاير:

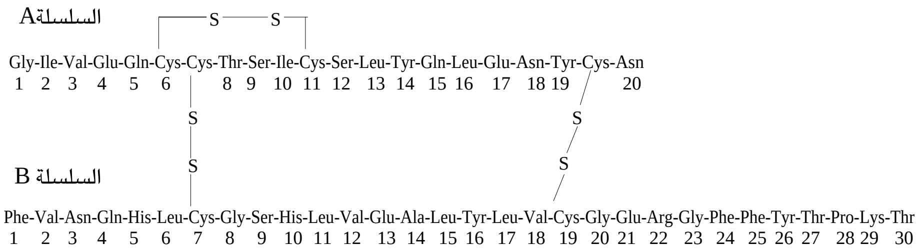
الإنسولين هو عديد الببتيد مكون من سلسلتين، A و B، مرتبطتين بجسرين من ثنائي السلفيد بين السلسلتين واللتين تربطان A7 بـ B7 و A20 مع B19. وهناك جسر ثالث ثنائي السلفيد داخل السلسلة يربط الثمالتين 6 و 11 في السلسلة A. ويكون موقع هذه الجسور ثنائية السلفيد الثلاث ثابتاً. وتحوي السلسلتان A و B 21 و 30 حمضاً أمينياً على الترتيب، في معظم الأنواع. ويوضح (الشكل 51-1)

البنية التكافؤية (التساهمية) للإنسولين البشري (الكتلة الجزيئية 5.734 ك. دالتون)، ويبين (الجدول 51-2) مقارنة للاستبدالات في الأحماض الأمينية التي توجد في مختلف الأنواع. حيث تحدث الاستبدالات في مواضع عديدة ضمن أي من السلسلتين من دون التأثير في النشاط الحيوي، وهي شائعة بشكل خاص في المواضع 8 و 9 و 10 من السلسلة A. وبذلك تكون هذه المنطقة غير مهمة للنشاط الحيوي.

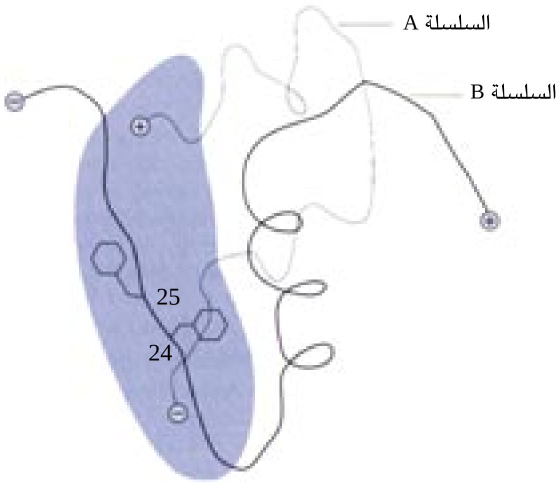
إلا أنه بالمقابل يتم الحفاظ على عدة مواضع ومناطق بشكل كبير ومنها (1) مواضع الروابط ثنائية السلفيد الثلاث؛ (2) والثمالات الكارهة للماء في المنطقة الطرفية الكربوكسيلية من السلسلة B؛ (3) والمناطق الطرفية الأمينية والكربوكسيلية من السلسلة A. وإن وجود هذا التعديل أو الاستبدال الكيميائي لأحماض أمينية نوعية في هذه المناطق قد سمح للباحثين باستنباط تركيبة المنطقة النشيطة (الشكل 51-2). وتسهم المنطقة الكارهة للماء الطرفية الكربوكسيلية من السلسلة B أيضاً في التشكيل المثنوي للإنسولين.

الاختلافات عن سياق الحمض الأميني الآدمي		
الأنواع	**المواضع 8، 9 ، 10 من السلسلة A على الترتيب**	**الموضع 30 من السلسلة B**
الإنسان	الثريونين ـ السيرين ـ الأيزولوسين	الثريونين
الخنزير والكلب وحوت العنبر	الثريونين ـ السيرين ـ الأيزولوسين	ألانين
الأرنب	الثريونين ـ السيرين ـ الأيزولوسين	السيرين
الماشية والماعز	الألانين ـ السيرين ـ الڤالين	ألانين
الغنم	الألانين ـ الجليسين ـ الڤالين	ألانين
الحصان	الثريونين ـ الجليسين ـ الأيزولوسين	ألانين
الحوت	الألانين ـ السيرين ـ الثريونين	ألانين

الجدول 51-2 : الاختلافات في بنية الإنسولين عند أنواع الثدييات.



الشكل 1-51 : البنية التكافؤية (التساهمية) للإنسولين البشري.



الشكل 2-51 : المنطقة الضرورية للفعالية البيولوجية في جزيء الإنسولين. يبين الشكل بنية تخطيطية للإنسولين كما جرى تحديدها بوساطة التصوير البلوري بالأشعة السينية (X-ray). حيث توضح المنطقة المظللة ذلك الجزء من الإنسولين الذي يعتقد بأنه الأكثر أهمية في منح الفعالية البيولوجية للهرمون. وتكون ثمالتا الفينيل ألانين B24 و B25 هما موضعا الطفرات التي تؤثر في الفعالية الحيوية للإنسولين. وقد أشير للنهايات الأمينية في سلسلتي الإنسولين A و B بالرمز (+)، في حين أخذت النهايات الكربوكسيلية الرمز (−).

يوجد تشابه وثيق بين جزيئات الإنسولين عند الإنسان والخنزير والبقر:

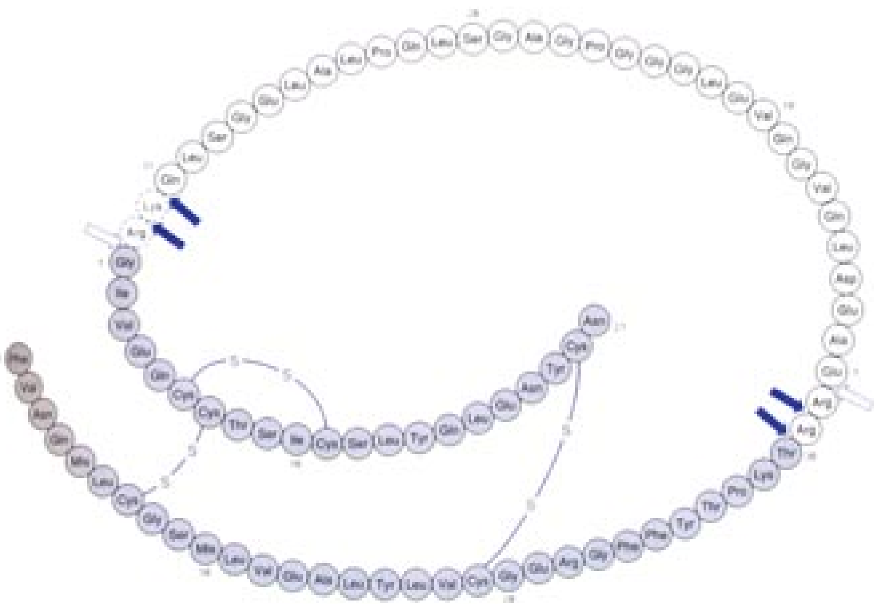
يختلف الإنسولين الخنزيري بحمض أميني واحد، حيث يحل الألانين محل الثريونين عند B30، في حين يكون عند الإنسولين البقري هذا التعديل بالإضافة لاستبدال الألانين بالثريونين في الموضع A8 والڤالين مكان الإيزولوسين في الموضع A10 (الجدول 51-2). ولا تؤدي هذه التعديلات إلى تغيير ملحوظ في الفعالية البيولوجية مع حدوث اختلاف ضئيل جداً في الفعالية المستضدية. على الرغم من أن كافة المرضى الذين يعطون إنسوليناً غيرياً يُظْهرون عيارات منخفضة من الأضداد الدورانية تجاه الجزيء وقلة منهم يكون لديهم عيارات مهمة إكلينيكياً. وقد كان كل من الإنسولين الخنزيري والبقري علاجاً معيارياً لداء السكري إلى أن تم إنتاج الإنسولين البشري بتقنية الدنا DNA مأشوب. ورغم التفاوت الواسع في البنية الأولية، إلا أن الفعالية البيولوجية تبلغ نحو 25-30 وحدة دولية /مج من الوزن الجاف في كافة أنواع الإنسولين.

يشكل الإنسولين بنى معقدة مثيرة للغاية ويوجد الزنك بتركيز مرتفع في الخلية بيتا β ويشكل معقدات مع الإنسولين وطليعة الإنسولين. ويشكل الإنسولين عند جميع أنواع الفقاريات مثنويات متماثلة من خلال الارتباط الهيدروجيني بين المجموعات الببتيدية للثمالتين B24 وB26 من موحودين اثنين، وتَنْتَظم هذه عند تراكيز مرتفعة بشكل مسدوسات، في كل منها ذرتان من الزنك. وقد جعلت هذه البنية ذات الترتيب الأعلى من دراسة البنية البلورية للإنسولين سهلة المنال. ويكون الإنسولين على الأرجح في الشكل الموحودي (أحادي القسيمة) عند التراكيز الفيزيولوجية.

يخلق الإنسولين كسلف طليعة هرمونية:

يجري تخليق الإنسولين بشكل سلف طليعة هرمونية (Preprohormorne) (الوزن الجزيئي 11,500 تقريباً)، وهو يكون النمط الطليعي للببتيدات التي تأتي من جزيئات طليعية أكبر. ويقوم تسلسل الحماض الأميني الـ 23 الكاره للماء السليف أو القيادي بتوجيه الجزيء نحو صهاريج الشبكة الهيولية الباطنية وتجري إزالته بعد

ذلك. وهذا يؤدي إلى جزيء طليعة الإنسولين بوزن جزيئي 9000، والتي تؤمن الهيئة الفراغية الضرورية للجسور ثنائية السلفيد المناسبة. وكما هو مبين في (الشكل 3-51)، يكون ترتيب الإنسولين الطليعي الذي يبدأ من الطرف الأميني، هو: السلسلة B – الببتيد الرابط (C) ـ السلسلة A. ويخضع جزيء طليعة الإنسولين لسلسلة من الانشطارات الببتيدية في مواقع معينة والتي تؤدي إلى تشكيل كميات متساوية جزئيياً من الإنسولين الناضج والببتيد -C. ويوجز (الشكل 3-51) هذه الانشطارات الإنزيمية.



الشكل 3-51 : بنية طليعة الإنسولين البشري. يكون جزيء الإنسولين وجزيء الببتيد ـ C ـ متصلين أحدهما بالآخر عند موقعين بوساطة روابط ثنائية الببتيد. وبحدوث الانشطار الأولي بوساطة إنزيم شبيه بالتربسين (الأسهم فاتحة اللون) ومن ثم عدة انشطارات بوساطة إنزيم شبيه بالكربوكسي ببتيداز (الأسهم غامقة اللون) فينتج عن ذلك جزيء الإنسولين المثنوي المتغاير (AB) والببتيد -C.

يجري تخليق هرمونات أخرى في الخلايا الجزيرية كجزيئات طليعية:

يحتاج تخليق الهرمونات في الخلايا الجزيرية الأخرى إلى معالجة إنزيمية بعد الترجمة لجزيئات طليعية بوزن جزيئي أعلى. ويسهم في ذلك عدة أشكال من الانشطارات الحالة للبروتين داخلياً (الشبيه بالتربسين) والحالة للبروتين خارجياً (الشبيه بالكربوكسي ببتيداز (B)، لأن التسلسل الهرموني قد يظهر عند النهاية الكربوكسيلية من الطليعة (السوماتوستاتين)، أو عند النهاية الأمينية (عديد الببتيد البنكرياسي)، أو عند النهايتين (الإنسولين) أو في الوسط (الجلوكاجون).

يحدث تخليق الإنسولين وتشكيل حبيباته في العضيات دوين الخلوية:

يتم تخليق طليعة الإنسولين من قبل الريباسات على الشبكة الهيولية الباطنية الخشنة، ثم تنزع قطعة الببتيد القيادي (السلف Pre) إنزيمياً لتشكيل الرابط ثنائي السلفيد، وثم الطي (الشكل 51-3) ويحدث ذلك في صهاريج هذه العضي. وينقل جزيء طليعة الإنسولين إلى جهاز جولجي، حيث يبدأ تحلل البروتين والتعليب في الحبيبات الإفرازية. وتستمر الحبيبات في النضج عند عبورها الهيولى باتجاه الغشاء البلازمي. ويرتبط كل من طليعة الإنسولين و الإنسولين مع الزنك لتشكيل المسدوسات، لكن بما أن 95٪ تقريباً من طليعة الإنسولين يتحول إلى إنسولين، فإن بلورات الأخير هي التي تمنح التميز الشكلي للحبيبات. وتوجد كميات متساوية جزيئياً من الببتيد -C ضمن هذه الحبيبات، لكن لا تشكل هذه الجزيئات بنية بلورية. وعند حدوث تنبيه مناسب (انظر فيما بعد) تنصهر الحبيبات الناضجة مع الغشاء البلازمي وتفرغ محتوياتها إلى السائل خارج الخلوي بالالتفاظ (الإيماس Exocytosis).

تختلف خصائص طليعة الإنسولين والببتيد -C عن تلك للإنسولين:

تختلف الطلائع الإنسولينية في طولها من 78 إلى 86 حمضاً أمينياً، مع وجود تباين في طول منطقة الببتيد -C. ولطليعة الإنسولين الذؤوبية ذاتها ونقطة التساوي الكهربائي نفسها كالإنسولين وهي تشكل مسدوسات مع بلورات الزنك، وتتفاعل

بقوة مع الأمصال المضادة للإنسولين. وتتمتع طليعة الإنسولين بأقل من 5٪ من النشاط الحيوي للإنسولين، مما يشير إلى أن معظم المقر الفعال للأخير يكون موجوداً في الجزيء الطليعي. ويتحرر بعض من طليعة الإنسولين، مع الإنسولين وتكون هذه الكميات في بعض الحالات (أورام الخلايا الجزيرية) أكبر من الحالة العادية. وبما أن العمر النصفي البلازمي لطليعة الإنسولين أطول بشكل واضح من ذلك للإنسولين وحيث أن طليعة الإنسولين تتفاعل تصالبياً وبقوة مع الأمصال المضادة للإنسولين، فإنه يمكن للمقايسة المناعية الشعاعية للإنسولين أن تغالي أحياناً في تقدير النشاط الحيوي للإنسولين في البلازما.

لا يكون للببتيد -C نشاط حيوي معروف. وهو جزيء متميز من حيث الخاصية المستضدية. لذلك يمكن للمقايسات المناعية للببتيد -C أن يميز الإنسولين المفرز من منشأ داخلي عن الإنسولين المعطى من منشأ خارجي وهي تستطيع تحديد كمية الأول عندما تحول الأضداد المضادة للإنسولين دون القياس المباشر للإنسولين. وتتميز الببتيدات -C في مختلف الأنواع بمعدل مرتفع من استبدال الأحماض الأمينية، وهي الملاحظة التي تؤكد الإفادة عن أنه ليس لهذه القطعة على الأرجح فعالية بيولوجية.

لا يكون الترتيب البنيوي للجزيء الطليعي متميزاً عن الإنسولين، حيث تظهر هرمونات ببتيدية قريبة جداً (الريلاكسين وعوامل النمو الشبيهة بالإنسولين) الترتيب العام نفسه.

تم عزل جين الإنسولين البشري:

يتوضع جين الإنسولين البشري (الشكل 51-4) على الذراع القصير من الكروسوم 11. ويوجد عند معظم الثدييات جين مستقل للإنسولين انْتَظَم بشكل شبيه بالجين عند الإنسان، لكن يكون لدى الجرذان والفئران جينان غير أليليين. ويرمِّز كل منهما لطليعة متميزة للإنسولين والتي تعالج إلى جزيئين نشيطين متميزين من الإنسولين. ويعطي تخليق الإنسولين البشري في جمل التعبير الجرثومية باستخدام تقنية الدنا DNA المأشوب، مصدراً ممتازاً لهذا الهرمون من أجل المرضى بالداء السكري.



الشكل 4-51 : بنية تخطيطية لجين الإنسولين عند الإنسان. تتوافق المناطق ذات الخطوط المائلة مع المناطق غير المترجمة من mRNA المتماثل (المقابل)، وتتوافق المناطق فاتحة اللون مع التسلسلات الفاصلة، والمناطق الملونة مع تسلسلات الترميز. وتحدد الأحرف L و B و C و A تسلسلات الترميز لكل من الببتيد القيادي (أو الإشاري)، وللسلسلة الإنسولينية B، وللببتيد -C، وللسلسلة الإنسولينية A على الترتيب. ونلاحظ أن تسلسل الترميز للببتيد -C يكون مقطوعاً بتسلسل فاصل. الجدير ذكره هنا أنه تم رسم هذه البنية التخطيطية بحسب النسبة القياسية.

يجري تنظيم إفراز الإنسولين بشكل دقيق:

يفرز البنكرياس عند الإنسان 40-50 وحدة من الإنسولين يومياً وهي تمثل نحو 15-20 ٪ من الهرمون المخزون في الغدة. ويعد إفراز الإنسولين عملية متطلبة للطاقة تتضمن جملة الأنيبيبات ـ الخييطات في الخلايا B من الجزيرات ويشترك عدد من الوسائط في تحرير الإنسولين.

أ – الجلوكوز: إن ازدياد تركيز الجلوكوز في البلازما هو أهم منظم فيزيولوجي لإفراز الإنسولين. ويكون التركيز العتبة للإفراز هو مستوى جلوكوز البلازما الصيامي (80-100 مج/ 100مل)، وتحصل الاستجابة الأعظمية عند مستويات من الجلوكوز بين 300 و 500 مج/100مل.

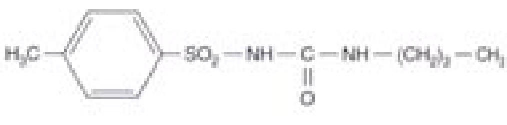
يرتبط أيض الجلوكوز، الذي يبدأه إنزيم الجلوكوكيناز، الذي يحول الجلوكوز إلى جلوكوز 6– فسفات، بشكل وثيق بإفراز الإنسولين. وليس واضحاً ما إذا كانت المتأيضات داخل الخلوية أو معدل التدفق الأيضي خلال سبيل ما، مثل تحويلة البنتوزفسفات أو دورة حمض الستريك، أو سبيل تحلل السكر، يشترك في ذلك. ومن المقبول عموماً أن زيادة نسبة الـ ATP إلى ADP (ATP/ADP) تؤدي إلى

تثبيط قنوات تدفق K^+ الحساسة للـATP. وهذا يسبب زوال استقطاب الخلية B. وتنشيط قنوات الـ Ca^{2+} الحساسة للفلطية. ويؤدي دخول الـCa^{2+} إلى إفراز الإنسولين.

ب – العوامل الهرمونية: تؤثر هرمونات عديدة في تحرر الإنسولين. فالنواهض (الشواد) β– أدرينالية الفعل، بشكل أساسي الإبينفرين، تثبط تحرر الإنسولين حتى عندما يتم تنبيه هذه العملية بالجلوكوز. أما النواهض β– أدرينالية الفعل فتنبه تحرر الإنسولين، غالباً بزيادة cAMP داخل الخلوي (انظر لاحقاً).

يؤدي التعرض المزمن لمستويات مفرطة من هرمون النمو والكورتيزول واللاكتوجين المشيمي والإستروجينات والبروجستينات إلى زيادة إفراز الإنسولين أيضاً لذلك ليس مستغرباً أن يزداد إفراز الإنسولين بشكل واضح خلال المراحل المتأخرة من الحمل.

جـ – العوامل الدوائية: تنبه عدة أدوية إفراز الإنسولين لكن مركبات السلفونيل يوريا هي التي تستخدم أكثر للمعالجة عند الإنسان. وتؤدي أدوية، مثل التلبوتاميد، إلى تنبيه تحرر الإنسولين بآلية مختلفة عن التي يستخدمها الجلوكوز وحققت استخداماً واسعاً في معالجة النمط 2 (غير المعتمد على الإنسولين) من الداء السكري. وقد تم مؤخراً تنسيل المستقبل الذي يربط هذا الصف من الأدوية من الخلايا بيتا البنكرياسية. ويرتبط هذا المستقبل إلى حد بعيد بقنوات K^+ الحساسة لـ ATP والموصوفة أعلاه، والتي يمكنها تفسير آلية عمل هذا الصف المهم من الأدوية.



1-التلبوتاميد

يتأيض الإنسولين بسرعة:

على النقيض من عوامل النمو الشبيهة بالإنسولين، لا يوجد للإنسولين بروتين بلازمي حامل؛ لذلك يكون عمره النصفي في البلازما أقل من 3-5 دقائق في الحالات السوية. وتعد الكليتان والكبد والمشيمة الأعضاء الرئيسية المشاركة في أيض الإنسولين؛ حيث يزال نحو 50٪ من الإنسولين في مرور واحد خلال الكبد.

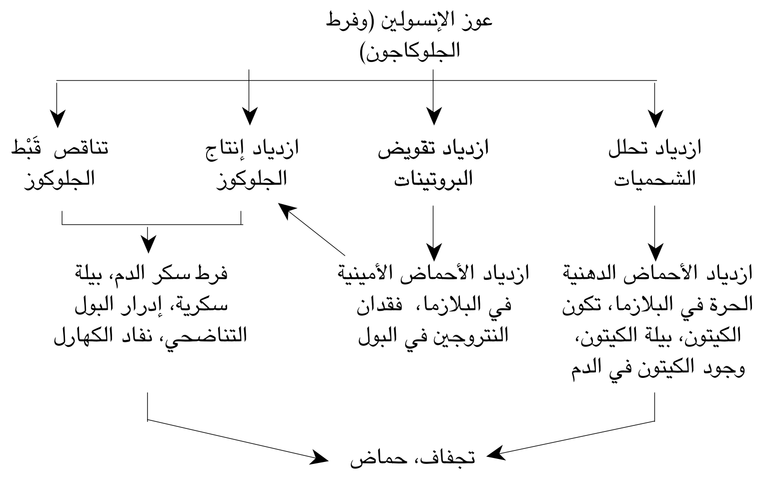
هناك آليات تضم جملتين إنزيميتين مسؤولة عن أيض الإنسولين حيث تتضمن الأولى بروتياز نوعي للإنسولين يوجد في العديد من الأنسجة، لكن يكون أعلى تركيز له في الأنسجة المذكورة أعلاه. وقد جرت تنقية هذا البروتياز من العضلات الهيكلية، والمعروف بأنه معتمد على السلفهيدريل. ويكون نشيطاً في الباهاء (pH) الفيزيولوجية. وتشمل الآلية الثانية ناقلة هيدروجين جلوتاثيون ـ إنسولين الكبدية. حيث يُضعف هذا الإنزيم الروابط ثنائية السلفيد، ثم تتدرك السلاسل A و B كل على حده وبسرعة. وليس واضحاً أي من هاتين الآليتين هي الأكثر نشاطاً في الشروط الفيزيولوجية، وغير واضح أيضاً ما إذا كان أي منهما خاضعاً للتنظيم.

عوز الإنسولين:

يمكن إدراك الدور الأساسي للإنسولين في أيض السكريات والشحميات والبروتينات بشكل أفضل بتفحص عواقب عوزه عند الإنسان. حيث يكون المظهر الرئيسي للداء السكري هو فرط سكر الدم (Hyperglycemia) الذي ينجم عن (1) نقص دخول الجلوكوز إلى الخلايا، (2) ونقص استعمال الجلوكوز في مختلف الأنسجة، و (3) زيادة إنتاج الجلوكوز (استحداث السكر) في الكبد (الشكل 51-5). وسنناقش كلاً من هذه النقاط بمزيد من التفصيل أدناه.

إن البُوال (Polyuria) والعطاش (Polydipsia) وتناقص الوزن رغم المدخول السعري الكافي هي الأعراض الرئيسية لعوز الإنسولين. ولكن كيف يمكن تفسير ذلك؟

إنه لمن النادر أن يتجاوز مستوى جلوكوز البلازما 120 مج/د.ل عند الأفراد الأسوياء، لكن كثيراً ما توجد مستويات أعلى بكثير عند المرضى بعوز فعل الإنسولين. وبعد أن يكون مستوى الجلوكوز في البلازما قد وصل لحد معين (عموماً أكثر من 80 مج/د.ل عند الإنسان) فإنه يتم تجاوز المستوى الأعظمي لعود الامتصاص النبيبي الكلوي للجلوكوز، فيفرغ السكر في البول (البيلة السكرية). ويزداد حجم البول بسبب إدرار البول التناضحي، ويترافق ذلك مع خسارة حتمية للماء (البُوال)، وهذا يؤدي بدوره إلى التجفاف (فرط الاسمولالية) وزيادة العطش، وفرط شرب الماء (السهاف، العُطاش). وتسبب البيلة السكرية خسارة كبيرة للسعرات (للحريرات) (4.1 ك. كالوري لكل جرام من الجلوكوز المفرغ)؛ حيث تؤدي هذه الخسارة، عندما تقترن مع الخسارة بالنسيج العضلي والشحمي إلى نقصٍ وخيم في الوزن على الرغم من زيادة الشهية (النَهَمْ) والمدخول السعري السوي أو الزائد.



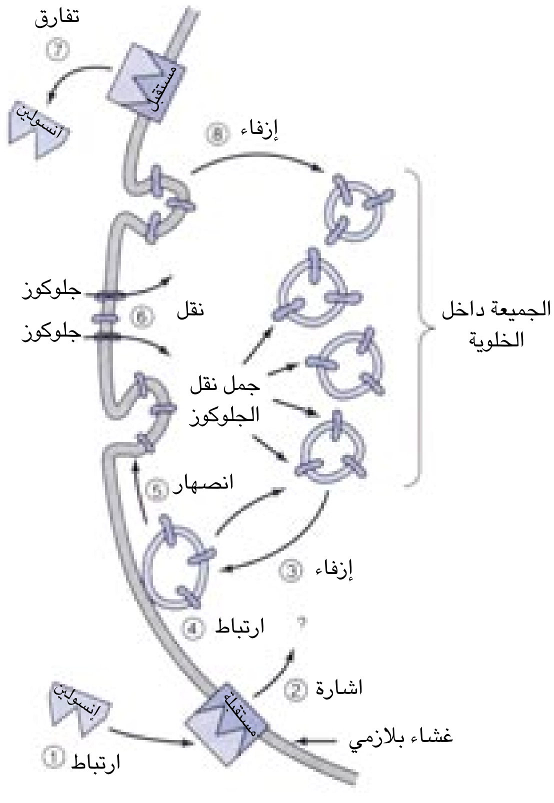
الشكل 51-5 : الفيزيولوجية المرضية لعوز الإنسولين.

يتناقص تخليق البروتينات في غياب الإنسولين، ويعود ذلك جزئياً إلى تناقص نقل الأحماض الأمينية إلى العضلات (تعمل الأحماض الأمينية كركائز في استحداث السكر). لذلك يكون الأفراد معوزي الإنسولين في توازن نتروجيني سلبي. ويغيب فعل الإنسولين المضاد لتحلل الشحوم، كما هو حال تأثيره المكوِّن للشحوم؛ لذلك ترتفع مستويات الأحماض الدهنية في البلازما. وعندما يجري تجاوز سعة الكبد على أكسدة الأحماض الدهنية إلى CO_2 فإنه يتراكم كل من حمض β– هيدروكسي بوتيريك وحمض أسيتوأسيتيك (فرط كيتون الجسم Ketosis) . ويقوم الجسم في البداية بتعديل تراكم هذه الأحماض العضوية من خلال زيادة خسارات الـ CO_2 في التنفس، لكن إذا لم يتم ضبط ذلك بإعطاء الإنسولين، يحدث حماض أيضي وخيم ويموت المريض في السبات السكري. ويوجز (الشكل 51-5) الفيزيولوجية المرضية لعوز الإنسولين.

أ– التأثيرات في النقل الغشائي: يكون تركيز الجلوكوز الحر داخل الخلية منخفضاً جداً بالمقارنة مع التركيز خارج الخلية. ويحدِّد معدل نقل الجلوكوز عبر الغشاء البلازمي للخلايا العضلية الشحمية، معدَّل فسفتة الجلوكوز وأيضه اللاحق عندما تكون مستويات الجلوكوز والإنسولين سوية. وعندما يرتفع الجلوكوز أو الإنسولين، كما هو الحال بعد الوجبات، تصبح الفسفتة هي المحددة للمعدل. ويدخل D– جلوكوز والسكاكر الأخرى ذات الهيئة المشابهة عند المواضع C_1-C_3 (الجالاكتوز و D – زيلوز و L – أرابينوز) للخلايا بالانتشار الميسر المتواسط بالحامل بوساطة ناقل الجلوكوز.

وقد جرى تحديد أربع نواقل مختلفة على الأقل بوساطة تقانات التنسيل الجزيئية. وهي تعرف بنواقل الجلوكوز 1-4 (GLUT 1-4). حيث يتوافر GLUT 1 في كل الأنسجة وهو يعد الناقل الرئيسي في الدماغ. أما GLUT 2 فيتوضع بشكل أساسي في الكبد، حيث يرتبط وظيفياً بالجلوكوكيناز ويتوضع GLUT 4 في النسيج الشحمي وعضلة القلب والعضلات الهيكلية، حيث يرتبط وظيفياً بالهكسوكيناز . II و يتعزز نقل الجلوكوز في الأنسجة الأخيرة بوساطة الإنسولين بشكل واضح. ويشمل ذلك تأثير V_{max} (زيادة عدد النواقل) أكثر من تأثير K_m (زيادة ألفة الارتباط).

ويتحقق ذلك باستدعاء نواقل الجلوكوز من جميعة غير نشيطة داخل خلوية ثم يحركهم إلى موضع نشيط في الغشاء البلازمي (الشكل 51-6). ويكون إزفاء النواقل هذا معتمداً على درجة الحرارة والطاقة، ويكون مستقلاً عن تخليق البروتينات.

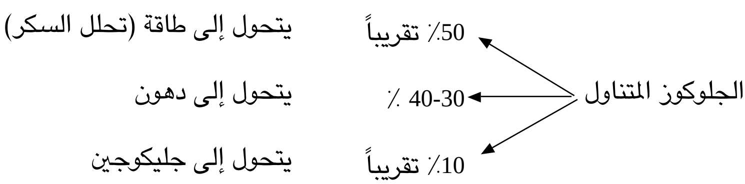


الشكل 51-6 : إزفاء نواقل الجلوكوز بوساطة الإنسولين.

تمثل الخلية الكبدية استثناء بارزاً لهذا المخطط. فالإنسولين لا يحرض الانتشار الميسر للجلوكوز إلى الخلايا الكبدية، لكنه يعزز بشكل غير مباشر التدفق الصافي نحو الداخل بتحويل الجلوكوز داخل الخلوي إلى الجلوكوز 6 – فسفات من خلال فعل الجلوكوكيناز، وهو إنزيم يتحرض بالإنسولين. وتبقي هذه الفسفتة السريعة على تركيز الجلوكوز الحر منخفضاً جداً في الخلية الكبدية. لذلك فهي تدعم دخوله بالانتشار البسيط باتجاه مدروج التركيز.

يحرض الإنسولين أيضاً دخول الأحماض الأمينية إلى الخلايا، بخاصة في العضلات، ويعزز حركة K^+ و Ca^{2+} والنوكليوزيدات والفسفات اللاعضوية. وتكون هذه التأثيرات مستقلة عن فعل الإنسولين في دخول الجلوكوز.

ب – التأثيرات في استعمال الجلوكوز: يؤثر الإنسولين في استعمال الجلوكوز داخل الخلايا بعدد من الطرق، كما هو موضح أدناه:



حيث يتحول نحو نصف الجلوكوز المتناول عند الفرد السوي إلى طاقة من خلال سبيل تحلل السكر ويخزن نحو النصف بشكل دهن أو جليكوجين. ويتناقص تحلل السكر بغياب الإنسولين، وتُعَرقَل العمليات الابتنائية في كل من تكون الجليكوجين وتكوُّن الشحوم. وبالفعل، فإن 5٪ فقط من كمية الجلوكوز المتناولة تتحول إلى دهن لدى مريض السكري المعوز للإنسولين.

يزيد الإنسولين تحلل السكر في الكبد بزيادة فعالية عدد من الإنزيمات الأساسية وكميتها، بما في ذلك الجلوكوكيناز والفسفوفركتوكيناز وكيناز البيروفات. ويؤدي تعزيز تحلل السكر إلى زيادة استعمال الجلوكوز فيتناقص بذلك بشكل غير مباشر تحرر الجلوكوز إلى البلازما. ويخفض الإنسولين أيضاً فعالية جلوكوز –6– فسفاتاز، وهو إنزيم موجود في الكبد وليس في العضلات. ونظراً لأن الجلوكوز

–6– فسفات لا يستطيع الخروج من الغشاء البلازمي، لذلك يؤدي فعل الإنسولين هذا إلى احتباس الجلوكوز ضمن الخلية الكبدية.

يقوم الإنسولين في العضلات الهيكلية بتحريض دخول الجلوكوز من خلال الناقل، ويزيد أيضاً الهكسوكيناز II، الذي يفسفت الجلوكوز ويستهل أيضه. وينبه الإنسولين تكون الشحميات في النسيج الشحمي: (1) بتأمين أسيتيل -CoA و NADPH اللازمين لتخليق الأحماض الدهنية، (2) وبالحفاظ على مستوى سوي من كربوكسيلازأسيتيل -CoA، الذي يحفز تحول أسيتيل -CoA إلى مالونيل -CoA؛ و (3) بتوفير الجليسرول المشترك في تخليق ثلاثي أسيل الجليسرول. وتتناقص كافة هذه الأحداث في عوز الإنسولين وبذلك ينقص تكون الشحميات. وهناك سبب آخر لتناقص تكون الشحميات في عوز الإنسولين هو أن الأحماض الدهنية التي تتحرر بكميات كبيرة بتأثير عدد من الهرمونات عندما لا يقاومها الإنسولين، تقوم بفعل الارتجاع (Feedback) بتثبيط تخليقها بحد ذاتها بتثبيط كربوكسيلاز أسيتيل -CoA. لذلك تكون محصلة تأثير الإنسولين في الدهن ابتنائية.

يتضمن فعل الإنسولين النهائي في استعمال الجلوكوز، عملية ابتنائية أخرى. ففي الكبد والعضلات ينبه الإنسولين تحول الجلوكوز إلى الجلوكوز 6– فسفات (بتأثير كل من الجلوكوكيناز والهكسوكيناز II على الترتيب)، الذي يخضع بعد ذلك للمصاوغة (للمزامرة) إلى جلوكوز 1–فسفات، وينجبل في الجليكوجين بوساطة إنزيم سنتاز الجليكوجين، الذي تتنبه فعاليته بالإنسولين. ويكون هذا الفعل غير مباشر ومزدوج الطبيعة. وينقص الإنسولين مستويات cAMP داخل الخلوي بتنشيط الفسفوداي إستيراز. وبما أن الفسفتة المعتمدة على cAMP تعطل سنتاز الجليكوجين، فإن المستويات المنخفضة من هذا النوكليوتيد تسمح ببقاء الإنزيم بالشكل النشيط، كما ينشط الإنسولين فسفاتازاً يقوم بنزع الفسفات من سنتاز الجليكوجين، فيؤدي بذلك إلى تنشيط هذا الإنزيم، وأخيراً، يثبط الإنسولين الفسفوريلاز بآلية تتضمن الـ cAMP والفسفاتاز كما ذكر سابقاً، وهذا ينقص من تحرير الجلوكوز من الجليكوجين. ويكون تأثير الإنسولين الصافي في أيض الجليكوجين ابتنائياً أيضاً.

جـ - التأثيرات في إنتاج الجلوكوز (استحداث السكر): تحدث أفعال الإنسولين في نقل الجلوكوز، وتحلل السكر، وتكون الجليكوجين خلال ثوان أو دقائق، لأنها تتضمن بشكل رئيسي تنشيط أو تعطيل الإنزيمات بالفسفتة أو نزع الفسفات. وينطوي التأثير طويل الأمد في جلوكوز البلازما على تثبيط استحداث السكر بالإنسولين. ويتضمن تشكيل الجلوكوز من طلائع غير سكرية سلسلة من الخطوات الإنزيمية التي يتنبه العديد منها بالجلوكاجون (تعمل من خلال cAMP) وبهرمونات القشرانيات السكرية، وبدرجة أقل بالعوامل α و β- أدرينالية الفعل، والأنجيوتنسين II، والڤازوبريسين. ويثبط الإنسولين هذه الخطوات بحد ذاتها. ويكون الإنزيم الأساسي في سبيل استحداث السكر في الكبد هو كربوكسي كينازفسفوإينول البيروڤات (PEPCK)، الذي يحول الأكسالوأسيتات إلى فسفوإينول البيروڤات. وينقص الإنسولين كمية هذا الإنزيم بتثبيط انتقائي لانتساخ الجين الذي يرمز الـ mRNA الخاص بـ PEPCK (انظر أدناه).

د - التأثيرات في أيض الجلوكوز: إن الفعل الصافي لكافة تأثيرات الإنسولين سابقة الذكر هي إنقاص مستوى جلوكوز الدم. وفي هذا التأثير، يقف الإنسولين وحده مقابل عدد كبير من الهرمونات التي تحاول معاكسة هذا التأثير. ويمثل هذا من دون شك أحد أهم آليات الدفاع عند الكائن الحي، لأن نقص سكر الدم المديد يحمل في طياته تهديداً مهلكاً كامناً على الدماغ ويجب تجنبه.

هـ - التأثيرات في أيض الشحميات: لقد نوقشت أفعال الإنسولين المكونة للشحميات في سياق الكلام عن استعمال الجلوكوز. كما أن الإنسولين مثبِّط قوي لتحلل الشحميات في الكبد والنسيج الشحمي لذلك فهو يتمتع بتأثير ابتنائي غير مباشر. ويعود ذلك جزئياً إلى قدرة الإنسولين على إنقاص مستويات cAMP في الأنسجة (التي تزداد في هذه الأنسجة بفعل الهرمونات الحالة للشحميات؛ الجلوكاجون والإبينفرين). وكذلك إلى حقيقة مفادها أن الإنسولين يثبط فعالية الليباز الحساس للهرمون. ويفترض أن هذا التثبيط ناجم عن تنشيط الفسفاتاز الذي ينزع الفسفات وبذلك يعطل الليباز أو الكيناز البروتيني المعتمد على cAMP. وبهذا الشكل، فإن الإنسولين ينقص الأحماض الدهنية الحرة في الدوران وهذا ما يسهم في فعل الإنسولين في أيض السكريات، لأن الأحماض الدهنية تثبط تحلل

السكر في عدة خطوات منه وتنبه استحداث السكر. لذلك لا يمكن مناقشة التنظيم الأيضي في سياق الكلام عن هرمون أو متأيض واحد. فالتنظيم هو عملية معقدة يكون فيها التدفق عبر سبيل معين ناجماً عن تفاعل عدد من الهرمونات والمتأيضات.

تزداد فعالية الليباز عند المرضى بعوز الإنسولين مما يؤدي إلى تعزيز تحلل الشحميات وزيادة تركيز الأحماض الدهنية الحرة في البلازما والكبد. وتزداد أيضاً مستويات الجلوكاجون لدى هؤلاء المرضى، وهذا ما يعزز تحرر الأحماض الدهنية الحرة. (يعاكس الجلوكاجون معظم أفعال الإنسولين، وتكون الحالة الأيضية في داء السكري انعكاساً للمستويات النسبية للجلوكاجون والإنسولين) ويتأيض جزء من الأحماض الدهنية الحرة إلى أسيتيل -CoA (عكس تكون الشحميات) ثم إلى CO_2 و H_2O عن طريق دورة حمض الستريك. ويجري عند المرضى بعوز الإنسولين تجاوز سعة هذه العملية بسرعة ويتحول أسيتيل -CoA إلى أسيتوأسيتيل -CoA ومن ثم إلى حمض الأسيتوأسيتيل وحمض β– هيدروكسي بوتيريك. ويعاكس الإنسولين هذا السبيل.

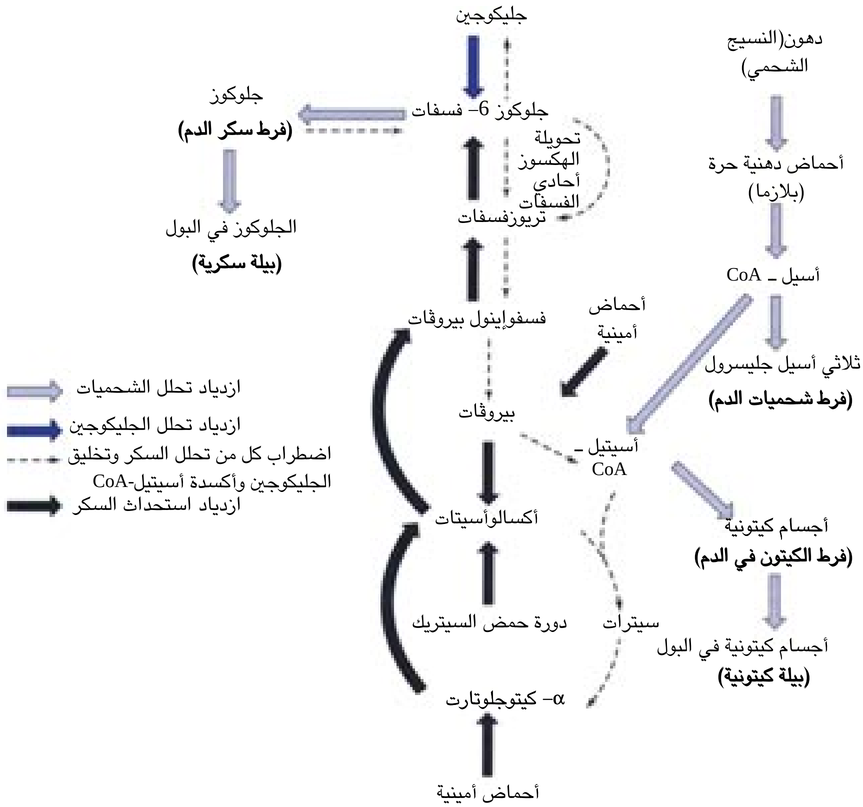
يؤثر الإنسولين بشكل واضح في تشكيل أو تصفية VLDL و LDL، لأن مستويات هذه الجسيمات، وبالتالي مستوى الكولسترول، تكون مرتفعة غالباً عند مرضى السكري غير المراقبين جيداً. ويعزى تسارع التصلب العصيدي وهي مشكلة خطيرة عند العديد من المرضى السكريين، إلى هذا التأثير الأيضي.

يمكن استنتاج أفعال الإنسولين بتفحص (الشكل 51-7)، الذي يظهر التدفق عبر عدة سبل حاسمة في غياب الهرمون.

و – التأثيرات في أيض البروتين: يتمتع الإنسولين عموماً بتأثير ابتنائي في أيض البروتين، حيث ينبه تخليق البروتينات ويعيق تدركها. كما ينبه الإنسولين قبط الأحماض الأمينية المتعادلة إلى العضلات وهو تأثير لا يتعلق بقبط الجلوكوز أو بانجبال الأحماض الأمينية فيما بعد بالبروتين. ويعتقد أن تأثيرات الإنسولين في التخليق العام للبروتينات في العضلات الهيكلية والقلبية وفي الكبد، تمارس على مستوى ترجمة الـ mRNA.

تبين في السنوات الأخيرة أن الإنسولين يؤثر في تخليق بروتينات نوعية بإحداث

تغيرات في جزيئات الـ mRNA الموافقة. وسنناقش بمزيد من التفصيل فيما بعد فعل الإنسولين هذا، وهو الذي يمكن أن يفسر في النهاية العديد من التأثيرات التي يتمتع بها الهرمون في فعالية بروتينات نوعية أو في كميتها.



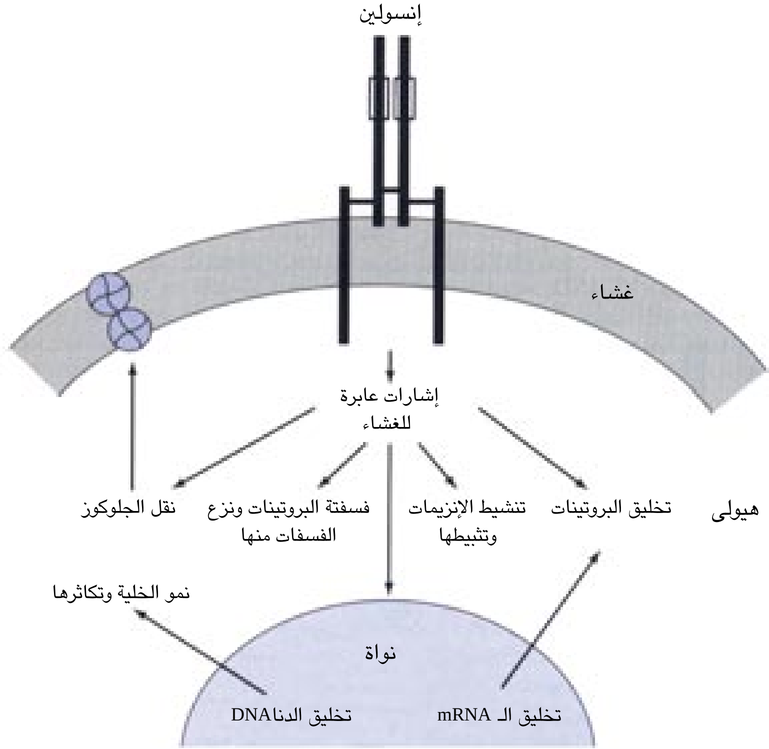
الشكل 7-51 : يحدث في عوز الإنسولين الوخيم تحلل متسارع للشحميات. وهذا يؤدي إلى ارتفاع مستويات ثلاثي أسيل الجليسرول في البلازما (فرط شحميات الدم). ويمكن للقليل فقط من أسيتيل -CoA أن يستقلب في دورة حمض السيتريك، أما الباقي فيتحول إلى أجسام كيتونية (وجود الكيتون في الدم)، ويفرغ بعضها (بيلة كيتونية). ونظراً لأن تحلل السكر مثبط، فإن الجلوكوز 6– فسفات المتشكل من تحلل الجليكوجين المتسارع يتحول إلى جلوكوز. هذا الأمر، بالإضافة إلى استحداث السكر المتسارع، يؤديان إلى فرط سكر الدم (بسبب زيادة توافر الأحماض الأمينية وازدياد كمية الـ PEPCK). ويعاكس الإنسولين جميع هذه العمليات بشكل أساسي.

ز – التـأثيـرات في التنسخ الخلوي: ينبـه الإنسـولـين تكاثـر عـدد من الخـلايا في المستنبت، وقد يسـهم أيضـاً في تنظيم النمو داخل الجسـم (In vivo). وتعد الأرومات الليفية المستنبتة أكثر الخلايا استخداماً في دراسات مراقبة النمو. ففي مثل هذه الخلايا، يقوم الإنسولين بتقوية قدرة كل من عامل نمو الأرومات الليفية (FGF)، وعـامل النمـو المشـتق من الصـفيحـات (PGDF)، وعـمل النمـو البشـروي (EGF)، وأسـتـرات الفـوربول المحـرضـة للورم، والبـروسـتـاجـلاندين $PGF_{2\alpha}$ $F_{2\alpha}$) ، والڤـازوبريسين ومـضـاهـئـات الـ cAMP وذلك من أجل تنبيـه تقـدم الدورة الخلوية للخلايا المتوقفة في الطور G_1 من الدورة بسبب العوز في المصل.

هناك مجال جديد مثير للبحث يتضمن استقصاء فعالية كيناز التيروزين. حيث يتمـتع مستقبل الإنسولين، إلى جانب مستقبلات العديد من الببتيدات الأخرى المحرضة للنمو، ومنها مستقبلات PDGF و EGF، بفعالية كيناز التيروزين. والمدهش في الأمر أن العديد من نواتج الجينات الورمية، التي يشتبه في أن يكون بعضـها مساهماً في تنبيه تنسخ الخلايا الخبيثة، هو أيضاً من كينازات التيروزين. وتحوي خلايا الثدييات مضاهئات لهذه الجينات الورمية (طلائع الجينات الورمية)، التي قد تشترك في تنسخ الخلايا السوية. وما يدعم هذه النظرية على أنها تشترك في ذلك قد جاء من الملاحظات الحديثة عن أن تعبير اثنين على الأقل من نواتج طلائع الجينات الورمية *c-fos* و *c-myc*، يزداد بعد إضافة الـ PDGF المصلي أو الإنسولين إلى الخلايا المتوقفة عن النمو.

آلية عمل الإنسولين بحاجة إلى التوضيح:

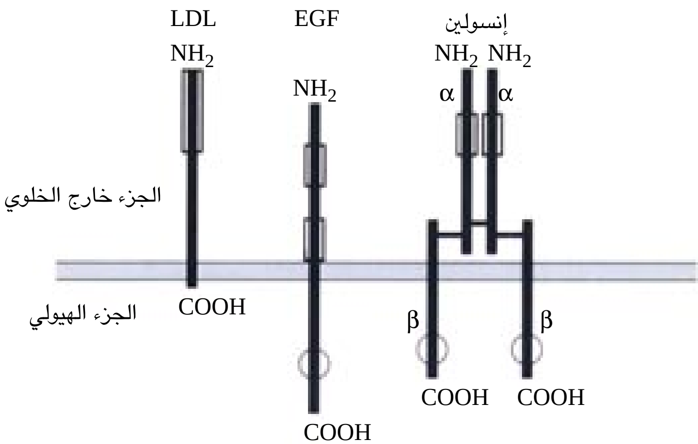
يبدأ فعل الإنسولين عندما يرتبط الهرمون بمستقبل بروتيني سكري نوعي على سطح الخلية الهدف. ويمكن أن تجري الأفعال المتنوعة للهرمون (الشكل 51-8) خلال ثوان أو دقائق (النقل، فسفتة البروتين، تنشيط الإنزيمات وتثبيطها، تخليق الرنا RNA) أو بعد بضع ساعات (تخليق البروتين والدنا DNA ونمو الخلية).



الشكل 51-8 : علاقة مستقبل الإنسولين بآلية عمل الإنسولين. يرتبط الإنسولين بمستقبله الغشائي ويتولد عن هذا التآثر واحدة أو أكثر من الإشارات العابرة للغشاء. وتقوم هذه الإشارة (أو الإشارات) بتعديل عدد واسع من الأحداث ضمن الخلية.

لقد درس مستقبل الإنسولين بمزيد من التفصيل باستخدام تقانات كيميائية حيوية والدنا DNA المأشوب. وهو مثنوي متغاير مكون من وحيدتين يشار إليهما بـ α و β وذلك بالهيئة α_2 β_2 مرتبطتين بروابط ثنائية السلفيد (الشكل 51-9). وتكون كلتا الوحيدتين قد اجتازتا تفاعلات انضمام الجليكوزيل إليها بشكل مكثف، ويؤدي نزع حمض السياليك والجالاكتوز إلى تناقص ارتباط الإنسولين وفعله. وتتمتع كل من هذه الوحيدات البروتينية السكرية ببنية ووظيفة فريدتين. حيث تكون الوحيدة α (135 ك. دالتون) خارج الخلية بالكامل، وهي تربط الإنسولين، على الأرجح عن

طريق منطقة غنية بالسيستين. أما الوحيدة β (95 ك. دالتون) فهي بروتين عابر للغشاء ينجز الوظيفة الرئيسة الثانية للمستقبل (الفصل 44)، أي تنبيغ الإشارة. ويتمتع الجزء الهيولي من الوحيدة (بفعالية كيناز التيروزين وبموضع للفسفتة الذاتية. ويعتقد أن كلا منهما يسهم في تنبيغ الإشارة وفعل الإنسولين (انظر أدناه). ويبين (الشكل 51-9) التشابه اللافت للنظر بين المستقبلات الثلاثة التي لها وظائف مختلفة جداً. وفي الواقع، يكون لعدة مناطق من الوحيدة β− تماثل في التسلسلات مع مستقبل EGF .



الشكل 51-9 : تمثيل تخطيطي لبنية مستقبلات LDL و EGF والإنسولين. يكون الطرف الأميني لكل منها في الجزء خارج الخلوي من الجزيء. تمثل الصناديق مناطق غنية بالسيستين، التي يعتقد أنها تساهم في ارتباط اللجين (الربيطة). لكل مستقبل منطقة قصيرة (حوالي 25 حمضاً أمينياً) تجتاز الغشاء البلازمي (خط أفقي فاتح اللون)، ويوجد منطقة متباينة الطول داخل الخلية. ويمتلك كل من مستقبلات الـ EGF والإنسولين فعالية كيناز تيروزين مرتبطة مع المنطقة الهيولية (دوائر) وفيهما أيضاً مقرات للفسفتة الذاتية في هذه المنطقة. ومستقبل الإنسولين هو بنية رباعية القسيمات متغايرة مرتبطة بوساطة جسور ثنائية السلفيد (خطوط أفقية).

يجري تخليق مستقبل الإنسولين وتدركه بشكل مستمر، ويبلغ عمره النصفي بين 7-12ساعة. ويتم تخليق المستقبل كببتيد أحادي السلسلة في الشبكة الهيولية الباطنية الخشنة، ويضم إليه الجليكوزيل بسرعة في جهاز جولجي. وتتكون طليعة مستقبل الإنسولين عند الإنسان من 1382 حمضاً أمينياً بوزن جزيئي 190000، وهي تنشطر لتشكل الوحيدات α و β الناضجتين ويتوضع جين مستقبلة الإنسولين عند الإنسان على الكروموسوم 19.

توجد مستقبلات الإنسولين على معظم خلايا الثدييات في كمية تبلغ نحو 20000 بالخلية الواحدة، وغالباً ما تتوضع على خلايا لا يعتقد إلى حد نموذجي أنها تشكل أهدافاً للإنسولين. وللإنسولين مجموعة معروفة جيداً من التأثيرات في العمليات الأيضية لكنه يشارك أيضاً في نمو وتنسخ الخلايا (انظر سابقاً) وكذلك في تكون أعضاء الجنين وتمايزها وفي ترميم الأنسجة وتجددها. وتكون بنية مستقبل الإنسولين وقدرة أنواع الإنسولين المختلفة على الارتباط بالمستقبلات وإحداث استجابات بيولوجية متماثلة تقريباً في كل الخلايا وكل الأنواع. وبهذا الشكل يكون الإنسولين الخنزيري أكثر فعالية دائماً بنحو 10-20 مرة من طليعة الإنسولين الخنزيري، والتي تكون بدورها أكثر فعالية بمقدار 10-20 مرة من إنسولين الخنزير الغيني، حتى لو طبق على الخنزير الغيني. ومن الواضح أنه جرت المحافظة على مستقبل الإنسولين إلى حد كبير وحتى أكثر من الإنسولين بحد ذاته. وعندما يرتبط الإنسولين بالمستقبل تجري عدة أحداث: (1) تغير في الهيئة الفراغية للمستقبل؛ (2) وترتبط المستقبلات بشكل تصالبي وتشكل تكدسات دقيقة (3) ويتم استبطان المستقبل؛ (4) وتتولد إشارة أو أكثر.

الجدير ذكره هنا أن أهمية تغير الهيئة الفراغية ما تزال غير معروفة ويمثل الاستبطان على الأرجح وسيلة لمراقبة تركيز المستقبل وتقلبه. وفي الحالات التي تكون فيها مستويات الإنسولين البلازمية مرتفعة، كالبدانة أو ضخامة النهايات، يتناقص عدد مستقبلات الإنسولين وتصبح الأنسجة الهدفية أقل حساسية للإنسولين. وينجم هذا التنظيم الأدنى عن فقدان المستقبلات بالاستبطان، وهي العملية التي تدخل بوساطتها معقدات إنسولين ـ مستقبلة إلى الخلية من خلال

الالتقام في حويصلات مغطاة بالكلاثرين (الفصل 43). ويفسر التنظيم الأدنى جزءاً من مقاومة الإنسولين في كل من البدانة والداء السكري من النمط 2.

ينقل الإنسولين الإشارات من خلال شلالات متعددة للكيناز:

يتمتع الإنسولين ومستقبلات IGF-I بفعاليات داخلية المنشأ لكيناز التيروزين البروتيني متوضعة في مناطقها الهيولية. وتكون هذه الفعاليات في حالة جاهزة للعمل عندما يرتبط المستقبل باللجين. ثم تفسفت المستقبلات بشكل ذاتي عند ثمالات التيروزين، وهذا يطلق مجموعة معقدة من الأحداث (ملخصة في الشكل 51-10) ويقوم مستقبل الإنسولين المفسفت بعد ذلك بفسفتة ركائز مستقبلة الإنسولين (هناك أربع من هذه الجزيئات على الأقل تسمى IRS 1-4) وذلك على ثمالات التيروزين. ويبدو أن IRS-1 يشارك في تأثيرات الإنسولين في النمو الخلوي. أما IRS-2 فهو يسهم أكثر في التأثيرات الأيضية للهرمون. وترتبط IRS المفسفتة بمناطق الـ SH2 في البروتينات المختلفة والتي تسهم مباشرة في تواسط مختلف تأثيرات الإنسولين.

ويقوم واحد من هذه البروتينات، هو الكيناز PI3، بالربط بين تنشيط مستقبلة الإنسولين وفعل الإنسولين من خلال تنشيط عدد من الجزيئات، منها الكيناز $p70^{S6}$. ويسهم هذا السبيل في إزفاء البروتينات والفعالية الإنزيمية وتنظيم الجينات المشاركة في الأيض بوساطة الإنسولين (الشكل 51-10). وهناك بروتين آخر يحوي المنطقة SH2 هو GRB2 الذي يرتبط بـ IRS-1 ويربط فسفتة التيروزين بالبروتينات المتعددة وتكون نتيجة ذلك هي تنشيط شلال إنزيمات كيناز الثريونين أو السيرين.

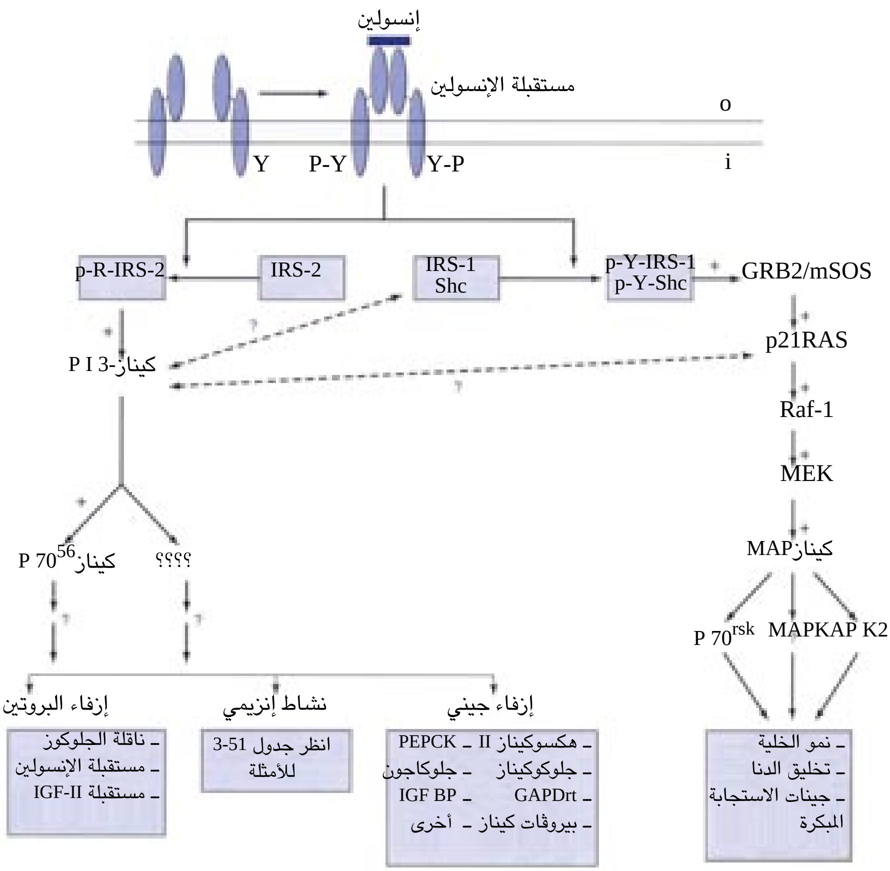
ويوضح (الشكل 51-10) السبيل الذي يبين كيف يقوم تآثر إنسولين ـ مستقبلة هذا بتنشيط سبيل الكيناز البروتيني المنشَّط بمحدث الانقسام الفتيلي (MAP). الجدير ذكره هنا أن الدور الدقيق للعديد من بروتينات الشحن هذه وإنزيمات الكيناز والفسفاتاز ما يزال قيد الدراسة. لكن من المهم بشكل خاص الربط بين هذه السبل المختلفة والأفعال الفيزيولوجية والكيميائية الحيوية المثبتة جيداً لهذا الهرمون. ويمكن تمييز الإنسولين عن الهرمونات الأخرى التي تنشط إنزيمات كيناز التيروزين، مثل EGF، في أنه لا ينشط الفسفوليباز C لذلك فهو يُظْهر تأثيراته من خلال الـ Ca^{2+} و IP_3 أو ثنائي أسيل الجليسرول.

تسهم فسفتة البروتين ونزع فسفاته في بعض أفعال الإنسولين:

إن العديد من التأثيرات الأيضية للإنسولين، بخاصة تلك التي تحدث بسرعة، تكون متواسطة بالتأثير في تفاعلات فسفتة البروتين ونزع فسفاته والتي تبدل بدورها الفعالية الإنزيمية للبروتين. ويدرج (الجدول 51-3) قائمة بالإنزيمات المتأثرة وفقاً لهذا الأسلوب. وفي بعض الحالات، يخفض الإنسولين من مستويات cAMP- داخل الخلوي (بتنشيط الفسفوداي استيراز cAMP-)، وبهذا الشكل فهو ينقص الحالة الفعالة للكيناز البروتيني المعتمد على cAMP؛ وتشتمل الأمثلة لهذا الفعل سنتاز الجليكوجين والفسفوريلاز. وفي حالات أخرى، لا يعتمد هذا الفعل على cAMP، وهو يظهر بتنشيط إنزيمات أخرى من الكيناز البروتيني (كما هو الحال مع مستقبل الإنسولين، وكيناز التيروزين)؛ أو بتثبيط كيناز بروتيني آخر؛ أو، وهو الأكثر شيوعاً، بتنبيه فعالية إنزيمات فسفاتاز الفسفوبروتين. ويؤدي نزع الفسفات إلى زيادة فعالية عدد من الإنزيمات الأساسية (الجدول 51-3). وتسمح هذه التعديلات التكافؤية (التساهمية) بحدوث تغيرات فورية تقريباً في فعالية الإنزيمات.

يؤثر الإنسولين في ترجمة mRNA:

من المعروف أن الإنسولين يؤثر في فعالية أو كمية 50 بروتيناً على الأقل في مختلف أنواع الأنسجة، حيث يتضمن العديد من هذه التأثيرات حدوث تعديل تكافؤي. ويؤثر أيضاً الإنسولين في ترجمة mRNA ـ وبذلك فهو يؤثر في التخليق العام للبروتينات ـ في عدد من الأعضاء (بما في ذلك الكبد)، والنسيج الشحمي والعضلات الهيكلية. وينشط الإنسولين سبيل الكيناز البروتيني الذي يؤدي إلى تنشيط eIF-4E ، وهو عامل ضروري للخطوة المحددة لمعدل تخليق البروتينات. وقد نوقش هذا الفعل المهم للإنسولين، والمسؤول عن جزء معتبر من الفعل الابتنائي للهرمون، بالتفصيل في (الفصل 40)، وهو موضح في (الشكل 40-8).


إنسولين
مستقبلة الإنسولين
o
i
Y
P-Y
Y-P
p-R-IRS-2
IRS-2
IRS-1
Shc
p-Y-IRS-1
p-Y-Shc
GRB2/mSOS
p21RAS
Raf-1
MEK
MAPكيناز
P I 3-كيناز
P 70^56 كيناز
؟؟؟؟
P 70^rsk
MAPKAP K2
إزفاء البروتين
نشاط إنزيمي
إزفاء جيني
ـ ناقلة الجلوكوز
ـ مستقبلة الإنسولين
ـ مستقبلة IGF-II
انظر جدول 51-3 للأمثلة
ـ هكسوكيناز II ـ PEPCK
ـ جلوكوكيناز ـ جلوكاجون
ـ GAPDrt ـ IGF BP
ـ بيروفات كيناز ـ أخرى
ـ نمو الخلية
ـ تخليق الدنا
ـ جينات الاستجابة المبكرة

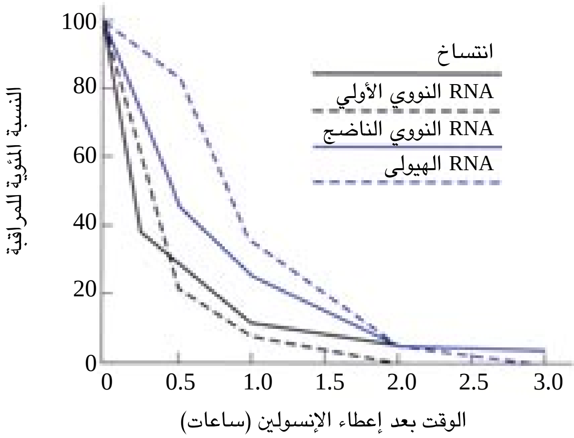
الشكل 10-51 : سبل إبلاغ إشارة الإنسولين. يؤدي ارتباط الإنسولين بمستقبله النوعي على الغشاء الخلوي إلى شلال من الأحداث داخل الخلوية. حيث أن تنبيه فعالية كيناز التيروزين داخلي المنشأ التابعة لمستقبل الإنسولين هو الذي يعين الحادثة الأولية، التي تؤدي إلى ازدياد فسفتة التيروزين (Y⟵ Y-P) لكل من المستقبل وجزيئات إبلاغ الإشارة النوعية. وتنبِّه ازدياد الفسفتة هذه فعالية العديد من الجزيئات داخل الخلية مثل إنزيمات GTPase والكيناز البروتينية والكيناز الشحمية، التي يكون لكل منها دور في بعض تأثيرات الإنسولين الأيضية. وقد تم عرض السبيلين الأفضل وصفاً في هذا الشكل. الأول: فسفتة IRS-2 المؤدي لتنشيط الكيناز الشحمية و PI 3- كيناز، ولتوليد شحميات إينوزيتولية جديدة قد تعمل كجزيئات «مرسال ثانية»، والتي تنشط بدورها عدداً من سبل إبلاغ الإشارة التي لم توصف جيداً (مثل الكيناز P70S6). والثاني: فسفتة IRS-1 المؤدي لتنشيط الـ GTPase الصغير و p21RAS، ولتنبيه شلال الكيناز البروتيني الذي ينشط الأشكال الأسوية للكيناز p42/p44 MAP، وإنزيمات الكيناز البروتينية المهمة في تنظيم تكاثر وتمايز أنماط خلوية متعددة. وقد يؤثر كل من هذه الشلالات في مختلف العمليات الفيزيولوجية، كما هو مبين. (IRS-1: الركيزة –1 لمستقبلة الإنسولين؛ IRS-2: الركيزة –2 لمستقبلة الإنسولين؛ GRB2: البروتين 2 الرابط لمستقبلة عامل النمو؛ SOS m: العنصر غير المسبوع للثدييات؛ MEK: كيناز MAP وكيناز ERK ؛ كيناز MAP: الكيناز البروتيني المنشط ـ المحدث للتفتل أو للإنقسام الفتيلي؛ p90rsk : كيناز S6: البروتين الريباسي p90؛ MAPKAPK2 : الكيناز -2 البروتيني المنشط لكيناز MAP؛ الكيناز –3PI: الكيناز–3 لفسفاتيديل الإينوزيتول؛ الكيناز p70S6: الكيناز S6 البروتيني الريباسي p70.

الإنزيم	التغير في الفعالية	الآلية المحتملة
أيض الـ cAMP		
الفسفوداي استيراز (منخفضة الـ K_m)	يزداد	الفسفتة
الكيناز البروتيني المعتمد على cAMP	ينقص	ارتباط الوحيدات R و C
أيض الجليكوجين		
سنتاز الجليكوجين	يزداد	نزع الفسفات
كيناز الفسفوريلاز	ينقص	نزع الفسفات
الفسفوريلاز	ينقص	نزع الفسفات
تحلل السكر واستحداث السكر		
نازعة هيدروجين البيروڤات	يزداد	نزع الفسفات
كيناز البيروڤات	يزداد	نزع الفسفات
6– فسفو فركتو 2– كيناز	يزداد	نزع الفسفات
فركتو 6،2– ثنائي فسفاتاز	ينقص	نزع الفسفات
أيض الشحميات		
كربوكسيلاز أسيتيل -CoA	يزداد	نزع الفسفات
دركتاز HMG-CoA	يزداد	نزع الفسفات
ليباز ثلاثي أسيل الجليسرول	ينقص	نزع الفسفات
جزيئات إطلاق الإشارة		
الكيناز p^{42}/44MAP	يزداد	نزع الفسفات
p^{90}RSK	يزداد	نزع الفسفات
GSK3	ينقص	نزع الفسفات
الكيناز p^{70}S6	يزداد	نزع الفسفات
فسفاتاز الفسفوبروتين 1G	يزداد	نزع الفسفات

الجدول 51-3 : الإنزيمات التي تتغير درجة فسفتتها وفعاليتها بواسطة الإنسولين.

يؤثر الإنسولين في التعبير الجيني:

تحدث كافة أفعال الإنسولين التي نوقشت حتى الآن على مستوى الغشاء البلازمي أو الهيولى. وإضافة إلى ذلك يؤثر الإنسولين في عمليات نووية نوعية، يفترض أنها من خلال وسيطه داخل الخلوي. ويحفز إنزيم كربوكسي كيناز فسفو إينول البيروفات (PEPCK) خطوة محددة للمعدل في استحداث السكر. ويتناقص الـ PEPCK بفعل الإنسولين لذلك ينخفض استحداث السكر. وقد بينت الدراسات الحديثة أن معدل إنتاج جين الـ PEPCK ينقص بشكل انتقائي خلال دقائق بعد إضافة الإنسولين إلى خلايا (الورم الكبدي) (Hepatoma) مستنبتة (الشكل 51-11). ويكون نقص الانتساخ مسؤولاً عن تناقص كمية النسخة الأولية وعن تناقص $mRNA^{PEPCK}$ الناضج الذي يتناسب بدوره طرداً مع نقص معدل تخليق الـ PEPCK ويجري هذا التأثير عند المستويات الفيزيولوجية من الإنسولين (من 10^{-12} إلى 10^{-9} جزئي/ل)، وتتواسطه مستقبلة الإنسولين، ويبدو أنه ناجم عن تناقص معدل تثبيط نسخة $mRNA^{PEPCK}$.



الشكل 51-11 : تأثير الإنسولين في إنتاج جين نوعي. تؤدي إضافة الإنسولين إلى خلايا الورم الكبدي H4IIE إلى تناقص سريع في معدل انتساخ جين الـ PEPCK. ويتبع ذلك تناقصاً في كميات النسخة الأولية في النواة والـ $mRNA^{PEPCK}$ الناضج. وينخفض معدل تخليق بروتين PEPCK بعد تناقص كمية $mRNA^{PEPCK}$ في الهيولى.

على الرغم من أن الدراسات المهتمة بتنظيم الـ PEPCK قد أعطت المثال الأول عن تأثير الإنسولين في انتساخ الجين، إلا أن هذه الحالة لم تعد وحيدة بعد. وفي الواقع، يبدو أن تنظيم تخليق الـ mRNA هو تأثير رئيسي للإنسولين. حيث أن هناك أكثر من 100 جزيء نوعي من mRNA تتأثر بالإنسولين، كما يتأثر أيضاً بالهرمون عدد من جزيئات mRNA في الكبد والنسيج الشحمي والعضلات الهيكلية وعضلة القلب حيث أنه لم يجر تحديد هذه الجزيئات بعد. ومن المعروف أن الهرمون في عدة حالات يؤثر في الإنتاج الجيني. ويبين (الجدول 51-4) بعض الأمثلة عن ذلك.

يتضمن تأثير الإنسولين هذا إنزيمات محتجزة في الخلايا، وإنزيمات وبروتينات مفرزة، وبروتينات مشاركة في العملية التوالدية وبروتينات بنيوية (الجدول 51-4). ويسهم في ذلك أيضاً عدد من الأعضاء أو الأنسجة، ويحدث التأثير في العديد من الأنواع. وقد تم في الآونة الأخيرة إدراك وفهم كيف يقوم الإنسولين بتنظيم انتساخ mRNA النوعي، وعلى أنه وسيلة لتعديل الفعالية الإنزيمية، وهو يساوي عمليات الفسفتة ونزع الفسفات في الأهمية. وقد يفسر تأثير الإنسولين في الانتساخ الجيني تأثيره أيضاً في كل من تكون المضغة والتمايز ونمو الخلايا وتنسخها.

إن الداء السكري هو في الأغلب أفضل تعبير عن الفيزيولوجية المرضية التي تضم الإنسولين:

يؤدي عوز الإنسولين أو مقاومة فعل الإنسولين إلى الداء السكري ويكون عند 90٪ تقريباً من الأفراد السكريين داء سكرياً غير معتمد على الإنسولين (النمط 2) (NIDDM). ويكون مثل هؤلاء المرضى بدينين عادةً ولديهم ارتفاع في مستويات الإنسولين في البلازما، وتكون مستقبلات الإنسولين منظمة بشكل متدن. أما النسبة الباقية 10٪، فيكون لديهم الداء السكري المعتمد على الإنسولين (النمط 1) (IDDM).

هناك حالات نادرة معينة توضح ملامح أساسية عن فعل الإنسولين. حيث أن قلة من الأفراد ينتجون أضداداً موجهة ضد مستقبلاتهم الإنسولينية. وتقوم هذه الأضداد بمنع الإنسولين من الارتباط بالمستقبل، بحيث يصاب مثل هؤلاء الأفراد بمتلازمة مقاومة الإنسولين الشديدة وتسبب الأورام الناشئة من الخلايا β بيتا فرط

إنسولين الدم ومتلازمة تتميز بنقص سكر الدم الوخيم. ويتوضح دور الإنسولين (أو ربما دور IGF-I أو IGF-II) في تكون الأعضاء والنمو عن طريق الحالات النادرة من مرض الجن (متلازمة دونهيو Leprechaunism).

حيث تتميز هذه المتلازمة بنقص الوزن عند الولادة، ونقص الكتلة العضلية، ونقص الدهون تحت الجلد، وبسحنة الجني ومقاومة الإنسولين مع ارتفاع واضح في المستويات البلازمية للإنسولين النشيط بيولوجياً، والموت المبكر. وتبين أنه يكون لدى العديد من الأفراد المصابين بالمتلازمة نقص في مستقبلات الإنسولين أو يكون لديهم مستقبلات معيبة.

إن IGF-I و IGF-II قريبان من الإنسولين في البنية والوظيفة:

من الصعب فصل تأثيرات الإنسولين في نمو الخلية وتنسخها عن الأفعال المشابهة التي يبديها كل من IGF-I و IGF-II. وفي الواقع يمكن أن يتآثر الإنسولين و IGFs في هذه العملية. وقد أشير سابقاً إلى التشابه البنيوي لهذه البروتينات.

ويبين (الجدول 51-5) مقارنة فيما بينها أكثر تفصيلاً. إن الـ IGF-I و IGF-II ببتيدات وحيدة السلسلة مكونة من 70 و 76حمضاً أمينياً على الترتيب. ويوجد تماثل يبلغ 62٪ بين IGF-I و IGF-II ويكون هذان الهرمونان متماثلين مع الإنسولين في 50٪ من ثمالاتهما. وتمتلك هذه الجزيئات مواضع مستضدية متميزة ويجري تنظيمها بطرق مختلفة (الجدول 51-5). ويعد الإنسولين الهرمون الأقوى أيضياً، في حين تكون IGFs أكثر قوة في تنبيه النمو. ويكون لكل هرمون مستقبل وحيد. فمستقبل IGF-I، الشبيه بمستقبلة الإنسولين، هو مثنوي متغاير له بنية $\alpha_2\ \beta_2$ وهو كيناز التيروزين. ويبدو أن IGF-I والإنسولين يستخدمان شلالاً واحداً متماثلاً جداً لتنبيغ الإشارة. أما مستقبلة IGF-II فهي، خلافاً لذلك، عديد ببتيد أحادي السلسلة بوزن جزيئي 260000 وهو ليس كيناز التيروزين. وهي قريبة جداً، إن لم تكن متطابقة مع مستقبلة المانوز 6– فسفات.

الإنزيمات داخل الخلوية
ناقلة أمين التيروزين
كربوكسي كيناز فسفوإينول البيروڤات
سنتاز الأحماض الدهنية
كيناز البيروڤات
نازعة هيدروجين الجليسرول –3– فسفات
نازعة هيدروجين الجليسر ألدهيد–1
الجلوكوكيناز

البروتينات والإنزيمات المفرزة
الألبومين
الأدبسين
الأميلاز
α_{2u} جلوبلين
هرمون النمو

البروتينات المساهمة في التوالد
ألبومين البيض
الكازيين

بروتينات بنيوية
δ – كريستالين

بروتينات أخرى
الكبد (P^{33} ...إلخ)
النسيج الشحمي
عضلة القلب
العضلات الهيكلية

الجدول 51-4 : جزيئات الـ mRNA التي ينظمها الإنسولين (1).
(1) إن هذه القائمة انتقائية وقد تبين أن الإنسولين ينظم 100 على الأقل من mRNA المختلفة.

	الإنسولين	IGF-I	IGF-II
الأسماء الأخرى		**السوماتوميدين C**	**فعالية منبهة للتضاعف المتعدد (MSA)**
عدد الأحماض الأمينية	51	70	67
المصدر	خلايا β البنكرياسية	الكبد وأنسجة أخرى	أنسجة مختلفة
تنظيم المستوى بـ	الجلوكوز	هرمون النمو، الحالة التغذوية	غير معروف
المستويات البلازمية	0.3-2 نانوجرام/مل	المجال نانوجرام/مل	المجال نانوجرام/مل
البروتين الرابط البلازمي	لايوجد	يوجد	يوجد
الدور الفيزيولوجي الرئيسي	التحكم الأيضي	نمو الهيكل والغضروف	غير معروف، ربما له دور في نمو المضغة

الجدول 5-51 : مقارنة الإنسولين وعوامل النمو الشبيهة بالإنسولين.

إن الجلوكاجون ضادة للإنسولين:

باستعمال المستحضرات التجارية الأولى للإنسولين، ازداد مستوى جلوكوز البلازما قبل أن تخفضه، وذلك بسبب وجود ببتيد ملوِّث هو الجلوكاجون، الذي كان الهرمون المكتشف الثاني في الخلايا الجزيرية البنكرياسية.

يجري تخليق الجلوكاجون كجزيء طليعي أيضاً:

الجلوكاجون الذي يتم تخليقه بشكل رئيسي في الخلايا α من الجزيرات البنكرياسية، هو عديد ببتيدي أحادي السلسلة (وزنه الجزيئي 3.485 دالتون) يتألف

من 29 حمضاً أمينياً (الشكل 51-12). ويجري تخليق الجلوكاجون كسلف لطليعة الجلوكاجون وهي بوزن أكبر (9 ك. دالتون). ولقد اكتشفت جزيئات أكبر من هذه، لكن من غير الواضح بعد ما إذا كانت تمثل طلائع الجلوكاجون أو هي ببتيدات قريبة جداً منه. ويكون 30-40٪ فقط من الجلوكاجون ذي التفاعل المناعي في البلازما هو جلوكاجون بنكرياسي. أما البقية فتتألف من جزيئات أكبر عاطلة بيولوجياً.

يتشارك الجلوكاجون في بعض الخصائص المناعية والفيزيولوجية مع الجلوكاجون المعوي، وهو ببتيد يستخلص من مخاطية الإثنا عشري، وتكون 14 من ثمالات الأحماض الأمينية الـ 27 في السكرتين مماثلة لتلك في الجلوكاجون.

يدور الجلوكاجون في البلازما بشكل حر. وبما أنه لا يكون مرتبطاً ببروتين ناقل، فإن عمره النصفي في البلازما قصير (نحو 5 دقائق). ويتعطل الجلوكاجون من قبل الكبد، الذي يمتلك إنزيماً ينزع أول حمضين أمينيين من النهاية الأمينية عن طريق الشطر بين Ser2 و Gln3. وحيث أن الكبد هو مكان التوقف الأول للجلوكاجون بعد إفرازه، وبما أن الكبد أيضاً يعطل الهرمون بسرعة، لذلك يكون مستوى الجلوكاجون في الوريد البابي أعلى بكثير مما هو في الدوران المحيطي.

جلوكاجون

```
          1                                                   10
NH2 - His - Ser - Gln - Gly - Thr - Phe - Thr - Ser - Asp - Tyr -
      11                                                      20
      Ser - Lys - Tyr - Leu - Asp - Ser - Arg - Arg - Ala - Gln -
      21                                                29
      Asp - Phe - Val - Gln - Trp - Leu - Met - Asn - Thr - COOH
```

سوماتوستاتين

```
          1                                                   10
NH2 - Ala - Gly - Cys - lys - Asn - Phe - Phe - Trp - Lys - Thr -
      11                14                                    20
      Phe - Thr - Ser - Cys - COOH
```

الشكل 51-12 : تسلسلات الأحماض الأمينية في الجلوكاجون والسوماتوستاتين.

يتثبط إفراز الجلوكاجون بالجلوكوز، وهو الفعل الذي يؤكد الأدوار الأيضية المتعاكسة للجلوكاجون والإنسولين:

ليس واضحاً ما إذا كان الجلوكوز يثبط مباشرة إفراز الجلوكاجون أو أنه يجري تواسط هذا من خلال أفعال الإنسولين أو IFG-I، لأن كلا هذين الهرمونين من الخلايا الجزيرية تحرر الجلوكاجون بشكل مباشر. وهناك عدة مواد أخرى، بما في ذلك الأحماض الأمينية والأحماض الدهنية والكيتونات وهرمونات السبيل المعدي المعوي والنواقل العصبية، تؤثر في إفراز الجلوكاجون.

تعاكس أفعال الجلوكاجون عموماً أفعال الإنسولين:

في حين يقوم الإنسولين بتحريض اختزان الطاقة بتنبيه تكون الجليكوجين وتكون الشحميات وتخليق البروتينات، فإن الجلوكاجون يسبب تحريكاً سريعاً لمصادر الطاقة الكامنة باتجاه الجلوكوز عن طريق تنبيه تحلل الجليكوجين، باتجاه الأحماض الدهنية بتنبيه تحلل الشحميات. كما أن الجلوكاجون هو أقوى هرمون في سبيل استحداث السكر، وهو مكون للكيتون.

إن الكبد هو الهدف الأولي لفعل الجلوكاجون. حيث يرتبط الجلوكاجون بمستقبلات نوعية في الغشاء البلازمي للخلية الكبدية، وهذا ينشط سيكلاز الأدينيليل من خلال آلية مرتبطة بالبروتين G. ويقوم الـ cAMP المتولد بتنشيط الفسفوريلاز، الذي يرفع معدل تدرك الجليكوجين في حين أنه يثبط سنتاز الجليكوجين. وبالتالي تشكل الجليكوجين (الفصل 44). ويوجد هرمون ونوعية نسيجية في هذا التأثير، لأنه ليس للجلوكاجون تأثير في تحلل الجليكوجين في العضلات بينما يكون الإبينفرين نشيطاً في كل من العضلات والكبد.

ينبه مستوى الـ cAMP المرتفع تحول الأحماض الأمينية إلى جلوكوز بتحريض عدد من الإنزيمات المساهمة في سبيل استحداث السكر. حيث أن PEPCK هو أساسي من بين هذه الإنزيمات. ويرفع الجلوكاجون، من خلال cAMP، معدل انتساخ الـ mRNA من جين PEPCK، وهذا ينبه تخليق المزيد من PEPCK. وهذا

يعاكس تماماً تأثير الإنسولين، الذي ينقص انتساخ جين PEPCK. ويوضح (الجدول 6-51) أمثلة أخرى عن ذلك. ويكون الفعل الصافي للجلوكاجون في الكبد هو زيادة إنتاج الجلوكوز؛ ونظراً لأن الكثير من هذا الجلوكوز يوجد في الكبد، فإن تركيز الجلوكوز في البلازما يزداد استجابة للجلوكاجون.

يعد الجلوكاجون عاملاً قوياً في تحلل الشحميات. فهو يرفع مستويات cAMP في الخلايا الشحمية، وهذا ينشط الليباز الحساس للهرمون. ويمكن أن تتأيض الأحماض الدهنية الزائدة للحصول على الطاقة أو تتحول إلى أجسام كيتونية والأسيتوأسيتات و β– هيدروكسي بوتيرات. وهذا مظهر مهم للأيض في داء السكري، لأن مستويات الجلوكاجون تكون مرتفعة دائماً في عوز الإنسولين.

الإنزيمات التي تتحرض بارتفاع نسبة الإنسولين للجلوكاجون والتي تكظم بانخفاض هذه النسبة

الجلوكوكيناز

الإنزيم المشطر للسيترات

كربوكسيلاز أسيتيل -CoA

مختزلة HMG-CoA

كيناز البيروڤات

6 –فسفوفركتو –1– كيناز

6 –فسفوفركتو–2– كيناز/فركتوز–2، 6– ثنائي فسفاتاز

الإنزيمات التي تتحرض بانخفاض نسبة الإنسولين للجلوكاجون والتي تُكظم بارتفاع هذه النسبة

جلوكوز –6– فسفاتاز

كربوكسي كينازفسفوإينول البيروڤات (PEPCK)

فركتوز–1، 6– ثنائي فسفاتاز

الجدول 6-51 : الإنزيمات التي تتحرض أو تثبّط بالإنسولين أو بالجلوكاجون.

يثبط السوماتوستاتين إفراز هرمون النمو:

سمي السوماتوستاتين كذلك لأنه كان أول ما عزل من الوطاء كعامل يثبط هرمون النمو، وهو ببتيد حلقي يتم تخليقه كطليعة هرمونية كبيرة للسوماتوستاتين (نحو 11.5 ك. دالتون) في الخلايا δ من الجزيرات البنكرياسية. ويتعزز معدل انتساخ جين طليعة السوماتوستاتين بشكل ملحوظ بالـ cAMP. ويجري أولاً معالجة طليعة الهرمون إلى ببتيد من 28 حمضاً أمينياً وفي النهاية إلى جزيء بوزن جزيئي 1640 ويحوي 14 حمضاً أمينياً (الشكل 51-12). ويكون لكافة هذه الأشكال فعالية بيولوجية.

بالإضافة إلى وجود السوماتوستاتين في الوطاء والجزيرات البنكرياسية، فهو يوجد في العديد من الأنسجة المعدية المعوية حيث يعتقد أنه ينظم عدداً من الوظائف، ويوجد كذلك في مواقع عديدة من الجملة العصبية المركزية، حيث قد يكون ناقلاً عصبياً.

يثبّط السوماتوستاتين تحرر الهرمونات الأخرى من الخلايا الجزيرية من خلال فعل جنيب صماوي. وباستخدام السوماتوستاتين بكميات دوائية فهو ينقص وبشكل ملحوظ حالة فرط كيتون الجسم المترافقة مع عوز الإنسولين الحاد. ومن الواضح أن ذلك عائد إلى قدرته على تثبيط تحرر الجلوكاجون الذي يرافق نقص الإنسولين. وينقص أيضاً وصول الغذيات من السبيل المعدي المعوي إلى الدوران لأنه: (1) يطيل تفريغ المعدة، (2) وينقص إفراز الجاسترين وبالتالي إنتاج الحمض المعدي (3) وينقص الإفراز البنكرياسي خارجي الإفراز (الإنزيمات الهاضمة)، (4) وينقص الجريان الدموي الحشوي، و (5) يبطئ امتصاص السكاكر. والقليل ما هو معروف عن الأفعال الكيميائية الحيوية والجزيئية لهذا الهرمون.

ما تزال وظيفة عديد الببتيد البنكرياسي غير معروفة:

إن عديد الببتيد البنكرياسي (pp)، ببتيد من 36 حمضاً أمينياً (نحو 4.2 ك. دالتون)، وهو ناتج الخلايا البنكرياسية F. ويزداد إفرازه عند الإنسان بتناول وجبة طعام بروتينية والصيام، والتمارين، ونقص سكر الدم الحاد. وهو ينقص

بالسوماتوستاتين وبالجلوكوز داخل الوريد. وما تزال وظيفة عديد الببتيد البنكرياسي مجهولة، لكن وضعت اقتراحات عن التأثيرات في مستويات الجليكوجين الكبدي والإفراز المعدي المعوي.

هناك العديد من الهرمونات المعدية المعوية:

بدأ يتوضح مبحث الغدد الصم مع اكتشاف هرمون معدي معوي:

في العام 1902، قام بايليس (Bayliss) وستارلنج (Starling) بتقطير حمض الهيدروكلوريك في عروة منزوعة التعصيب من اللفائفي عند كلب، وأظهرا أن هذا قد قاد إلى زيادة إفراز السائل من البنكرياس. والجدير ذكره هنا أن حَقن حمض الهيدروكلوريك HCl داخل الوريد لم يحاك هذا التأثير، لكن تحقق ذلك بزرق خلاصة مخاطية الصائم في الوريد. وقد افترض هذان الباحثان أن «السكرتين»، المتحرر من مخاطية المعى العلوي استجابة لمنبه ما، يغادر إلى البنكرياس عن طريق الدوران، حيث يمارس تأثيره. وقد كان بايليس وستارلنج أول من استخدم كلمة «هرمون»، وكان السكرتين أول هرمون حددت وظيفته.

على الرغم من أنه تم تحديد فعالية السكرتين في عام 1902، إلا أن الأمر استغرق 60 عاماً قبل إثبات هويته الكيميائية. وقد أضحت أسباب الفاصل الزمني، الذي امتد 60 عاماً واضحة الآن؛ ذلك أن لفصائل الببتيدات المعدية المعوية المتقاربة جداً بنى كيميائية ووظائف بيولوجية متشابكة، وتوجد معظم هذه الببتيدات في أشكال متعددة.

ومن بين الهرمونات المعدية المعوية الرئيسية يوجد السكرتين فقط بشكل وحيد. وبالمقابل فوجود أشكال متعددة للببتيدات المعدية المعوية في الأنسجة المعدية المعوية وفي الدوران قد أعاق تحديد عدد هذه الجزيئات وطبيعتها. وقد ساعد مفهوم الجزيئات الطليعية في إيضاح هذه المسألة؛ فالكثير من التغاير النسيجي ناجم عن هذه الميزة. كما أن تقانات الفصل قد جرى تطويرها مؤخراً فقط وهي ساعدت أيضاً على التمييز فيما بينها.

تتمتع الهرمونات المعدية المعوية ببعض الملامح الخاصة:

لقد جرى عزل أكثر من اثني عشر ببتيداً لكل منها أفعال خاصة من الأنسجة المعدية المعوية (الشكل 51-7). والميزة الفريدة لهذه المجموعة من الهرمونات هي أن العديد منها يوافق التعريف التقليدي للهرمون، ويتمتع بعضها بأفعال جنيب صماوية، ويعمل البعض الآخر بأسلوب عصبي صماوي (كالنواقل أو المعدلات العصبية الموضعية).

وهناك ميزة خاصة أخرى للجملة الصماوية المعدية المعوية هو أن الخلايا تكون مبعثرة في كل أجزاء السبيل المعدي المعوي بدلاً من أن تكون متجمعة في أعضاء منفصلة كما هو الحال في الغدد الصم النموذجية أكثر. ويبين (الجدول 51-7) توزع الهرمونات المعدية المعوية. وبما أن العديد من الببتيدات المعدية المعوية يوجد في الأعصاب في الأنسجة المعدية المعوية فإنه ليس مستغرباً أن يكون معظمها موجوداً أيضاً في الجملة العصبية المركزية.

هناك فصائل من الهرمونات المعدية المعوية:

يمكن إدراج العديد من هذه الهرمونات في فصيلة واحدة أو اثنين بالاعتماد على تسلسل الأحماض الأمينية والتشابه الوظيفي. وهاتان هما فصيلة الجاسترين، التي تتألف من الجاسترين والكولي سيستوكينين (CCK)، وفصيلة السكرتين، التي تضم السكرتين والجلوكاجون وعديد الببتيد المعدي المثبِّط (GIP) وعديد الببتيد المعوي الفعال في الأوعية (VIP) والجليسنتين (الذي يتمتع بتفاعلية مناعية شبيهة بالجلوكاجون، لكنه ببتيد مستقل). ولا تحمل الببتيدات العصبية الصماوية: النيوروتنسين، والببتيدات الشبيهة بالبمبيسين، والمادة P، والسوماتوستاتين تشابها بنيوياً لأي ببتيد معدي معوي آخر. ويمكن القول إن الصفة العامة الأخيرة لهذه المجموعة الأخيرة من الجزيئات هي أنها ذات أعمار نصفية قصيرة جداً في البلازما وقد لا تقوم بدور فيزيولوجي في البلازما.

الهرمون	الموضع	الفعل الرئيس
الجاسترين	الغار المعدي، الإثنا عشري	الحمض المعدي وإفراز الببسين
الكولي سيستوكينين (CCK)	الإثنا عشري، الصائم	إفراز الأميلاز البنكرياسي
السكرتين	الإثنا عشري، الصائم	إفراز البيكربونات البنكرياسي
عديد الببتيد المعدي المثبط (GIP)	الأمعاء الدقيقة	يعزز تحرر الإنسولين المتواسط بالجلوكوز؛ ويثبط إفراز الحمض المعدي
عديد الببتيد المعوي الفعال في الأوعية (VIP)	البنكرياس	ارتخاء العضلات الملساء، تنبيه افراز البيكربونات البنكرياسي
الموتيلين	الأمعاء الدقيقة	يطلق الحركية المعوية بين الهضمية
السوماتوستاتين	المعدة، الإثنا عشري، البنكرياس	تأثيرات تثبيطية عديدة
عديد الببتيد البنكرياسي (PP)	البنكرياس	يثبط إفراز البيكربونات والبروتين والبنكرياس
الإنكيفالينات	المعد، الإثنا عشري، المرارة	أفعال شبيهة بالأفيونات
المادة P	كامل السبيل المعدي المعوي	أفعال فيزيولوجية غير مؤكدة
التفاعلية المناعية الشبيهة بالبمبيسين (BLI)	المعدة، الإثنا عشري	تنبيه تحرر الجاسترين و CCK
النيوروتنسين	اللفائفي	أفعال فيزيولوجية غير معروفة
الجلوكاجون المعوي	البنكرياس، الأمعاء الدقيقة	أفعال فيزيولوجية غير معروفة

الجدول 51-7 : الهرمونات المعدية المعوية.

ما هو معروف عن آلية عمل الهرمونات المعدية المعوية قليل نسبياً:

لقد تأخرت دراسات آلية فعل الهرمونات الببتيدية المعدية المعوية عن تلك للهرمونات الأخرى، ومما لا شك فيه أن ذلك بسبب أن معظم الانتباه قد اتجه حتى الآن إلى تصنيف مختلف الجزيئات والتثبت من فعلها الفيزيولوجي. وهناك استثناء بارز لهذا البيان يتضمن تنظيم إفراز الإنزيمات من الخلايا العنيبية في البنكرياس.

لقد تم تحديد ست صفوف مختلفة من المستقبلات على الخلايا العنيبية في البنكرياس؛ وهي: (1) العوامل الكولينية الفعل المسكارينية، (2) وفصيلة الجاسترين و CCK، (3) والبمبيسين والببتيدات القريبة (4) وعائلة الفيزاليمين (Physalaemin) والمادة P، (5) والسكرتين و VIP، و (6) ذيفان الكوليرا. ويبدو أن الصفوف من 1-4 تعمل من خلال آلية فسفوإينوزيتيد – كالسيوم، في حين تعمل المجموعتان 5 و 6 من خلال cAMP.

الخلاصة:

تصنع خلايا الجزيرات البنكرياسية وتفرز أربع هرمونات على الأقل: الإنسولين والجلوكاجون والسوماتوستاتين وعديد الببتيد البنكرياسي. من بينها يكون للإنسولين والجلوكاجون أدوار أيضية محددة بشكل أفضل من غيرها. يجري تخليق الإنسولين كطليعة هرمون أحادية السلسلة (طليعة الإنسولين) ذات فعالية بيولوجية قليلة وتعالج إلى جزيء مثنوي متغاير نشيط له البنية αβ مرتبطتان معاً برابطتين ثنائية السلفيد بين السلسلتين. وتتشارك البروتينات القريبة جداً من الإنسولين بما فيها الريلاكسين وعوامل النمو الشبيهة بالإنسولين، بميزة الجزيء الطليعي هذا. وهذا المثال هو الذي قاد إلى مفهوم أكثر تعميماً عن الجزيئات البروتينية الطليعة ومعالجتها إلى جزيئات نشيطة أصغر.

ينطوي مستقبل الإنسولين على فعالية داخلية المنشأ لكيناز التيروزين؛ وتفترض المعطيات الحديثة بأن الفسفتة الذاتية للمستقبل تطلق سلسلة من التآثرات بروتين ـ بروتين التي تؤدي إلى تنشيط الكيناز PI 3- وشلال كيناز الـ MAP. وقد أصبحت

التأثيرات الفيزيولوجية للإنسولين معروفة جيداً. ويؤثر الإنسولين في نقل الأيونات والركائز وفي المرور الخلوي والفعالية الإنزيمية وتخليق البروتين والتعبير الجيني. وبشكل عام فإن هذه التأثيرات تتعلق بمعظم أوجه تراكم الطاقة واستعمالها، وهي قد تسهم في التنسخ الخلوي.

الجلوكاجون هو هرمون ببتيدي صغير، لكن يجري تخليقه أيضاً في البداية كطليعة هرمونية كبيرة. ويرتبط الجلوكاجون بمستقبل خلوي نوعي كبير يكون مرتبطاً بجملة البروتين -G. ويعد الـ cAMP الوسيط داخل الخلوي لفعل الجلوكاجون وتعاكس أفعال الجلوكاجون الأيضية عموماً تلك التي للإنسولين.

لا يعتقد أن يكون السبيل المعدي المعوي مثله مثل عضو صماوي تقليدي، مع أنه ينتج العديد من الهرمونات المختلفة. وينتج العديد منها في الدماغ والأنسجة العصبية الأخرى، حيث تعمل كنواقل أو كمعدلات عصبية. وتعمل الهرمونات المعدية المعوية بشكل موضعي على أعضاء وعمليات مختلفة ضمن الجملة المعدية المعوية. والقليل ما هو معروف نسبياً عن آليات فعل العديد من هذه الهرمونات.

*** References:**

Brown JC: An overview of gastrointestinal endocrine physiology. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1993;22:719.

Cheatum B, Kahn CR: Insulin action and the insulin signalling network. *Endocr Rev* 1995; 16:117.

Lawrence JC Jr: Signal transduction and protein phosphorylation in the regulation of cellular metabolism by insulin. *Annu Rev Physiol* 1992;54: 177.

LeRoith D et al: Insulin-like growth factors and their receptors as growth regulators in normal physiology and pathologic states. *Trends Endocrinol Metab* 1992; 2:134.

Makino H, Manganiello VC, Kono T: Role of ATP in insulin actions. *Ann Rev Physiol* 1994;56:273.

O'Brien RM, Granner DK: The regulation of gene expression by insulin. *Physiol Rev* 1996;76: 1109.

Pilkis S, Granner D: Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. *Annu Rev Physiol* 1992;54:885.

Service FJ: Hypoglycemic disorders. *N Engl J Med* 1995;332: 1144.

Steiner DF et al: The new enzymology of precursor processing endoproteases. *J Biol Chem* 1992;267:23435.

الباب السادس

مواضيع خاصة

الفصل الثاني والخمسون

بنية الڤيتامينات الذوابة في الماء ووظيفتها

Structure and Function of the Water-Soluble Vitamins

مقدمة:

الڤيتامينات (Vitamins) غذيات (Nutrients) عضوية ضرورية بكميات صغيرة للعديد من الوظائف الكيميائية الحيوية، وهي لا يمكن بشكل عام تخليقها في الجسم لذلك يجب توافرها عن طريق الغذاء. والڤيتامينات المكتشفة أولاً هي A و B وقد تبين أنها ذوابة في الدهن والماء على الترتيب؛ ومع اكتشاف المزيد من الڤيتامينات أظهر أنها إما ذوابة في الدهن أو في الماء، واستعملت هذه الخاصية كأساس لتصنيفها. وقد تمت الإشارة إلى الڤيتامينات الذوابة في الماء كأفراد في المركب B (عدا الڤيتامين C)، وأعطيت للڤيتامينات الذوابة في الدهن المكتشفة حديثاً تسميات

وفقاً للأبجدية (كالڤيتامينات K, E, D,) وباستثناء خصائص ذوبانها، فإن للڤيتامينات الذوابة في الماء القليل من النقاط المشتركة من وجهة النظر الكيميائية.

الأهمية الطبية البيولوجية:

يؤدي غياب أو العوز النسبي للڤيتامينات في الغذاء إلى أمراض وحالات عوز متميزة ويكون عوز ڤيتامين واحد من المركب B نادراً لأنه غالباً ما تترافق الأقوات الفقيرة مع حالات عوز متعددة. ومع هذا فإن المتلازمات المحددة تكون خاصة بأعواز ڤيتامينات معينة. ومن بين الڤيتامينات الذوابة في الماء، تم تعريف حالات العوز التالية: البري بري (في عوز الثيامين) تشقق الشفتين (Cheilosis) والتهاب اللسان (Glossitis) والمث (Seborrhea) أو الزهام (سيلان دهني تقشري) ورهاب الضوء (Photophobia) (في عوز الريبوفلاڤين) والبلاجرا (Pellagra) في عوز النياسين) والتهاب الأعصاب المحيطية (في عوز البيريدوكسين) وفقر الدم ضخم الأرومات (Megaloblastic Anemia) وبيلة حمض ميثيل المالونيك وفقر الدم الوبيل (Pernicious Anemia) (في عوز الكوبالامين) وفقر الدم ضخم الأرومات (في عوز حمض الفوليك) والبثع (الإسقربوط Scurvy) (في عوز حمض الأسكوربيك). ويتم تجنب عوز الڤيتامينات باستهلاك أطعمة كثيرة التنوع وبكميات كافية.

إن ڤيتامينات B المركب هي تمائم العامل في التفاعلات الإنزيمية:

إن ڤيتامينات B المركب الأساسية لتغذية الإنسان هي: (1) الثيامين (الڤيتامين B_1)، و (2) الريبوفلاڤين (الڤيتامين B_2) و (3) النياسين (حمض النيكوتينيك، النيكوتيناميد) (الڤيتامين B_3)، و (4) حمض البانتوثينيك (الڤيتامين B_5)، و (5) الڤيتامين B_6 (البيريدوكسين، البيريدوكسال، البيريدوكسامين) و (6) البيوتين و (7) الڤيتامين B_{12} (الكوبالامين) و (8) حمض الفوليك (حمض بتروجلوتامات). وبسبب ذوبانها في الماء، فإن الفائض من هذه الڤيتامينات يطرح في البول ولذلك يندر أن

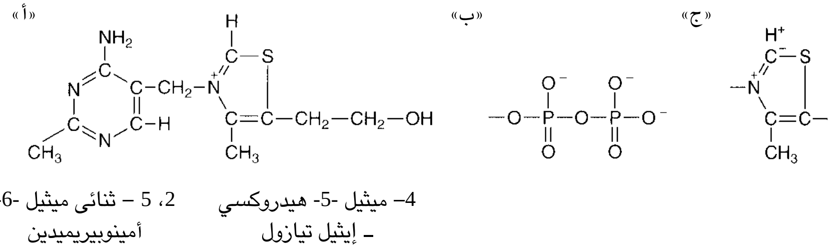
تتراكم بتراكيز سامة وللسبب ذاته يكون تخزينها محدوداً (فيما عدا الكوبالامين) ونتيجة لذلك يجب التزود بها بانتظام.

الثيامين (Thiamin):

يتألف الثيامين من بيريميدين بديل مرتبط بجسر ميثيليني بثيازول بديل (الشكل 1-52).

الثيامين النشيط هو ثنائي فسفات الثيامين:

يوجد إنزيم ناقلة ثنائي فسفو الثيامين المعتمد على الـATP في الدماغ والكبد، وهو المسؤول عن تحول الثيامين إلى شكله النشيط ثنائي فسفات الثيامين (بيروفسفات الثيامين) (الشكل 1-52).



الشكل 1-52 : الثيامين «أ»: الڤيتامين الحر. «ب»: تستبدل الزمرة – OH في الڤيتامين ثنائي الفسفات بالبيروفسفات. «ج»: شكل الكربانيون.

ثنائي فسفات الثيامين هو تميم الإنزيم في التفاعلات الإنزيمية التي يتم فيها نقل وحدة ألدهيد منشطة:

هناك نمطان من مثل هذه التفاعلات: (1) نزع الكربوكسيل التأكسدي للأحماض الكيتونية –α (مثل α – كيتوجلوتارات والبيروڤات والمضاهئات α – كيتو

لكل من اللوسين والإيزولوسين والفالين) و (2) تفاعلات ناقلة الكيتول (Transketolase) (كما في سبيل فسفات البنتوز)، وتتثبط جميع هذه التفاعلات في عوز الثيامين. حيث أنه في كل حالة يضيف ثنائي فسفات الثيامين كربوناً تفاعلياً للتيازول الذي يشكل الكربانيون (الشكل 52-1) الذي يكون حراً بعد ذلك ليضاف إلى زمرة الكربونيل في البيروفات على سبيل المثال (الشكل 19-5) ثم يجري نزع كربوكسيل المركب الإضافي وحذف CO_2. ويحدث هذا التفاعل في معقد متعدد لإنزيمات يسمى معقد نازعة هيدروجين البيروفات (لمزيد من التفاصيل انظر الفصل 19). يحفز نزع الكربوكسيل التأكسدي لـ α –كيتوجلوتارات لتشكيل سكسينيل CoA و CO_2 (الفصل 18) بمعقد إنزيمي مماثل بنيوياً لمعقد نازعة هيدروجين البيروفات ويوفر ثنائي فسفات الثيامين مرة ثانية كربانيون مستقر ليتفاعل مع الكربون –α من α –كيتوجلوتارات. ويستخدم ثنائي فسفات الثيامين على نحو مماثل في نزع الكربوكسيل التأكسدي من مشتقات حمض α – كيتوكربوكسيلات الأحماض الأمينية ذات السلسلة المتفرعة (الفصل 32). وإن دور ثنائي فسفات الثيامين كتميم إنزيمي في تفاعلات نقل الكيتول (الفصل 22) يكون مماثلاً لذلك الموصوف سابقاً بالنسبة لتفاعلات نزع الكربوكسيل التأكسدي.

يسبب نقص الثيامين البري بري ومتلازمات العوز ذات الصلة:

تتوقف التفاعلات المعتمدة على ثنائي فسفات الثيامين أو تصبح محدودة كثيراً عند الإنسان المعوز بالثيامين مما يؤدي إلى تراكم ركائز التفاعلات، كالبيروفات والسكاكر البنتوزية (الخماسية) ومشتقات α – كيتوكربوكسيلات للأحماض الأمينية متفرعة السلسلة أي اللوسين والإيزولوسين والفالين.

يوجد الثيامين تقريباً في كافة الأنسجة النباتية والحيوانية المستعملة بشكل شائع كأطعمة لكن يكون المحتوى منه ضئيلاً عادة. وتعد الحبوب غير المقشورة واللحوم مصادر جيدة للفيتامين. ويحدث البري بري (Beriberi) بسبب الأقوات الغنية بالسكريات والفقيرة بالثيامين، كالأرز المقشور، أو الأطعمة الأخرى المنقاة

جيداً كالسكر والدقيق الأبيض، التي تشكل المصادر الأساسية للطعام. وتتضمن الأعراض المبكرة اعتلالاً بالأعصاب المحيطية وإعياء وقهم هذه الأعراض تتطور إلى وذمة وتنكس قلبي وعائي وعصبي وعضلي. ويترافق الاعتلال الدماغي المنسوب لڤيرنيكه (Wernicke's encephalopathy) مع عوز الثيامين، وهو يوجد بشكل شائع عند الكحوليين المزمنين الذين يستهلكون قليلاً من الأطعمة الأخرى. وتحوي بعض أنواع السمك النيئة إنزيماً عطوباً بالحرارة (الثياميناز Thiaminase) الذي يخرب الثيامين، لكن لا يعد هذا الأمر مهماً في تغذية الإنسان.

تستعمل فعالية ناقلة الكيتول في الكريات الحمراء كمقياس لعوز الثيامين، وكذلك الأمر بالنسبة لإفراغ الثيامين في البول وتركيز ثيامين الدم.

الريبوفلاڤين (Riboflavin):

يتألف الريبوفلاڤين من حلقة الأيزوألوكسازين (Isoalloxazine) متغايرة الحلقات المرتبطة بكحول سكري هو الريبيتول (الشكل 52-2)؛ وهو صباغ ملون متألق ثابت بالحرارة نسبياً لكنه يتفكك بوجود الضوء المرئي.

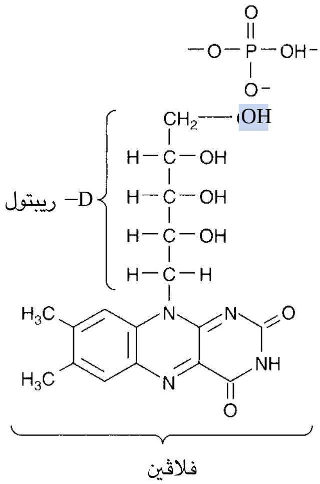
الريبوفلاڤين النشيط هو الفلاڤين أحادي النوكليوتيد (FMN) أوالفلافين أدينين ثنائي النوكليوتيد (FAD):

يتشكل FMN بفسفتة الريبوفلاڤين المعتمدة على ATP (الشكل 52-2)؛ في حين يتم تخليق FAD بتفاعل آخر مع الـATP، يجري فيه نقل الجزء AMP من الـATP إلى الـ FMN (الشكل 52-3).

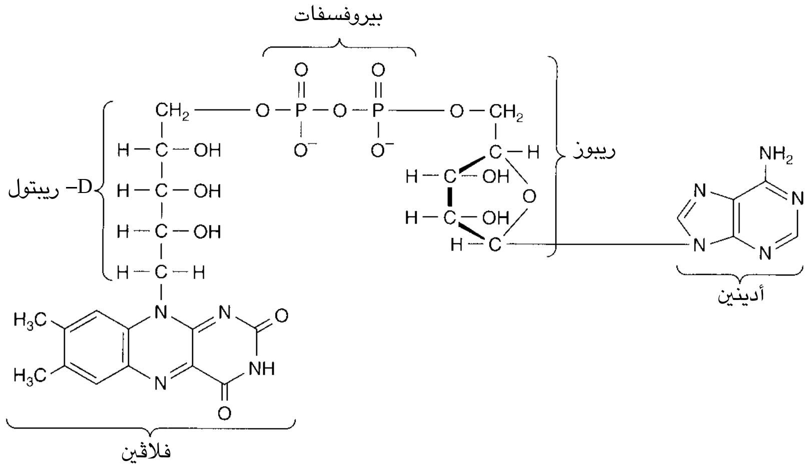
يعمل كل من FMN و FAD كزمر ضميمة للإنزيمات المؤكسدة المرجعة (المختزلة):

تعرف هذه الإنزيمات بالفلاڤوبروتينات (أو البروتينات الفلاڤينية

(Flavoproteins). وتكون الزمر الضميمة (Prosthetic) مرتبطة بقوة عادة إلى صمائمها البروتينية لكن ليس بشكل تساهمي. وتحوي العديد من الإنزيمات الفلاڤوبروتينية معدن أو أكثر، كالموليبدينيوم والحديد، كتمائم عامل أساسية وهي تعرف بالفلاڤوبروتينات المعدنية (Metalloflavoproteins).



الشكل 52-2 : الريبوفلاڤين. تستبدل زمرة – OH في الريبوفلاڤين فسفات (أحادي نوكليوتيد الفلاڤين، FMN)، المشار إليها في الشكل، بالفسفات.



الشكل 52-3 : ثنائي نوكليوتيد الفلاڤين والأدينين (FAD).

تنتشر الإنزيمات الفلاڤوبروتينية بشكل واسع، وهي ممثلة بعدة إنزيمات مؤكسدة مرجعة (Oxidoreductase) مهمة في الأيض عند الثدييات، كأكسيداز الحمض الأميني – α في نزع أمين الحمض الأميني (الشكل 31-7) وأكسيداز الزانثين في تدرك البورين (الفصل 36) ونازعة هيدروجين الألدهيد في تدرك الألدهيدات ونازعة هيدروجين الجليسرول 3–فسفات المتقدري في نقل المكافئات المرجعة من العصارة الخلوية إلى المتقدرات (الشكل 14-14)، ونازعة هيدروجين السكسينات في دورة حمض السيتريك (الجدول 18-1)، ونازعة هيدروجين أسيل -CoA والفلاڤوبروتين الناقل للإلكترون في أكسدة الأحماض الدهنية (الفصل 24)، ونازعة هيدروجين ثنائي هيدروليبويل في نزع الكربوكسيل التأكسدي من البيروڤات α– كيتوجلوتارات (الفصل 19). وتعد نازعة هيدروجين الـ NADH المكون الرئيسي في السلسلة التنفسية بالمتقدرات (الفصل 14). وتتضرر جميع هذه الجمل الإنزيمية في عوز الريبوفلاڤين. تخضع الفلاڤوبروتينات بدورها كتمائم إنزيمية، لإرجاع عكوس لحلقة الأيزوألوكسازين لتعطي الأشكال المرجعة $FMNH_2$ و $FADH_2$ (الشكل 13-2).

يسبب نقص الريبوفلاڤين متلازمة عوز عامة غير مميتة:

في ضوء الوظائف الأيضية الواسعة الانتشار للريبوفلاڤين، فإنه من المدهش ألا يؤدي عوز الريبوفلاڤين إلى حالات رئيسية مهددة للحياة، إلا أنه عند وجود العوز تشاهد أعراض مختلفة منها التهاب الفم الزاوي (Angular stomatitis) والتهاب اللسان وتشقق الشفتين والمث أو الزهام ورهاب الضوء.

يتم تخليق الريبوفلاڤين في النباتات والأحياء الدقيقة، لكن ليس عند الثدييات. وتعد كل من الخمائر والكبد والكلى مصادر جيدة للڤيتامين، الذي يمتص في الأمعاء بسلسلة من تفاعلات الفسفتة ونزع الفسفات في المخاطية. وتؤثر الهرمونات (كهرمون الدرق و ACTH) والأدوية (مثل الكلوربرومازين، وهو مثبط تنافسي) وعوامل تغذوية، في تحول الريبوفلاڤين إلى أشكاله النشيطة كتمائم عامل وبسبب حساسيته للضوء، فإنه يمكن أن يحدث عوز الريبوفلاڤين عند الأطفال حديثي

الولادة المصابين بفرط بيليروبين الدم الذين يعالجون بالمعالجة الضوئية (Phototherapy). تستخدم فعالية ردكتاز الجلوتاثيون في الكريات الحمراء لقياس حالة الريبوفلاڤين (الشكل 22-3).

النياسين (Niacin):

النياسين هو الاسم الجنيس لحمض النيكوتينيك والنيكوتيناميد حيث يمكن لأي منهما أن يعمل كمصدر للڤيتامين في الغذاء. وحمض النيكوتينيك هو مشتق حمضي أحادي الكربوكسيل للبيريدين (الشكل 52-4).

النياسين النشيط هو النيكوتيناميد أدينين ثنائي النوكليوتيد (NAD^+) والنيكوتيناميد فسفات أدينين ثنائي النوكليوتيد ($NADP^+$):

إن النيكوتينات هي شكل النياسين اللازم لتخليق الـ NAD^+ و الـ $NADP^+$ بوساطة الإنزيمات الموجودة في العصارة الخلوية لمعظم الخلايا. لذلك يجب أن يخضع أي نيكوتيناميد غذائي لنزع الأمين أولاً ليعطي النيكوتينات (الشكل 52-4). ثم تتحول النيكوتينات في العصارة الخلوية إلى NAD^+ منزوع الأميد بالتفاعل أولاً مع 5–فسفوريبوزيل –1– بيروفسفات (PRPP)، ثم بإضافة الأدينين من الـ ATP. وتشارك الزمر الأميدية للجلوتامين بعد ذلك في تشكيل تميم الإنزيم NAD^+، الذي قد يفسفت لاحقاً ليشكل $NADP^+$.

إن الـ NAD^+ والـ $NADP^+$ تمائم إنزيمية للعديد من الإنزيمات المؤكسدة المرجعة:

تلعب نوكليوتيدات النيكوتيناميد دوراً واسعاً كتمائم إنزيمية للعديد من الإنزيمات نازعة الهيدروجين، التي توجد في كل من العصارة الخلوية (مثل نازعة هيدروجين اللاكتات) وداخل المتقدرات (مثل نازعة هيدروجين المالات). وبهذا الشكل فهي

مكونات أساسية للعديد من السبل الأيضية المؤثرة في أيض كل من السكريات والشحميات والأحماض الأمينية. وبشكل عام، تحفز نازعات الهيدروجين المرتبطة بالـ NAD تفاعلات الأكسدة والإرجاع في السبل التأكسدية (مثل دورة حمض الستريك) في حين أن نازعات الهيدروجين المرتبطة بالـNADP أو إنزيمات الردكتار غالباً ما توجد في السبل ذات العلاقة بالتخليق الإرجاعي كسبيل البنتوزفسفات.

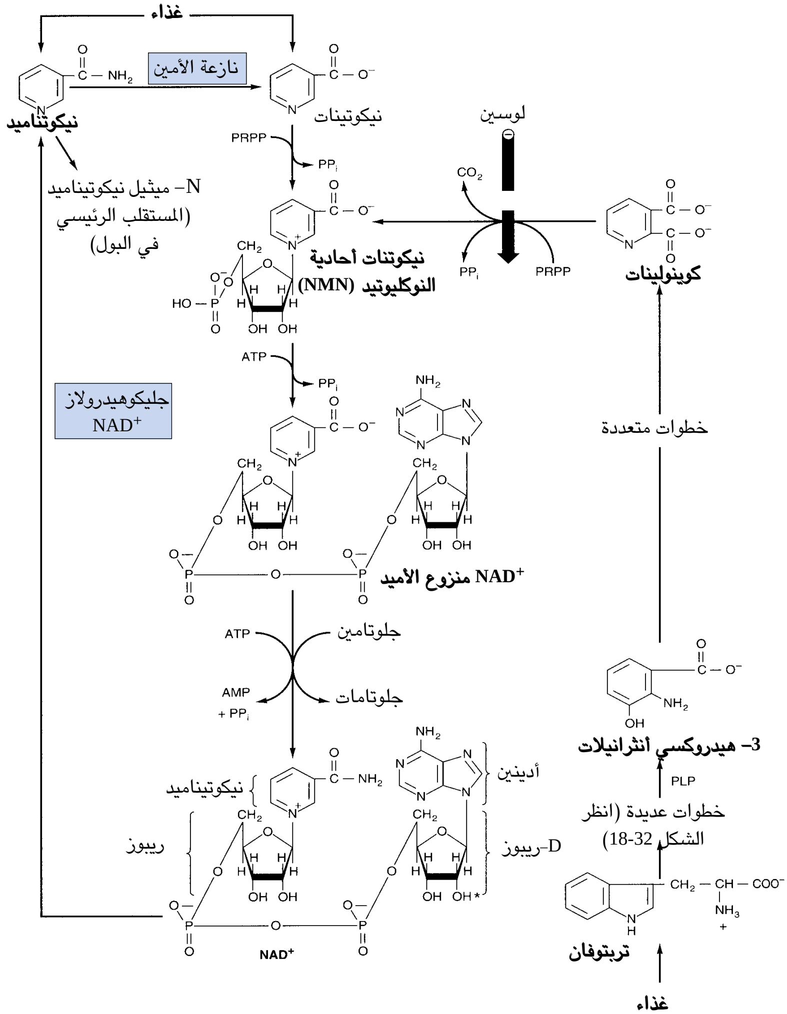
تتضمن آلية الأكسدة والإرجاع إضافة عكوسة لأيون الهيدريد (H^-) إلى حلقة البيريدين مع توليد أيون هيدروجين حر (H^+) انظر (الشكل 13-5)، مثلاً:

$$NAD^+ + AH_2 \longleftrightarrow NADH + H^+ + A$$

يسبب نقص النياسين متلازمة العوز البلاجرا:

تشمل الأعراض نقص الوزن والاضطرابات الهضمية والتهاب الجلد والاكتئاب والخرف.

يوجد النياسين بشكل واسع في معظم الأطعمة النباتية والحيوانية. إلا أنه لتقدير قيمة النياسين في طعام ما يجب أن يؤخذ في الحسبان الحقيقة القائلة أن الحمض الأميني الأساسي التربتوفان يمكن أن يتحول إلى الـ NAD^+ (الشكل 52-4)؛ فكل 60 مج من التربتوفان يمكن أن تولد 1 مج مكافئ للنياسين. وعلى هذا الشكل يتطلب إحداث عوز النياسين أن يكون الغذاء فقيراً بكل من النياسين المتاح والتربتوفان. وتحدث مثل هذه الحالة عند الشعوب المعتمدة على نبات الذرة كطعام ثابت أساسي مما يسبب البلاجرا. وفي الحقيقة، يوجد النياسين في نبات الذرة لكن بشكل مرتبط غير متاح هو النياسيتين (Niacytin)، الذي يمكن أن يتحرر منه النياسين بالمعالجة الأولية بمادة قلوية. إن الاعتماد في الغذاء على (السرجوم Sorghum)؛ (نبات شبيه بالذرة) يحدث البلاجرا أيضاً ليس بسبب فقره بالتربتوفان بل لمحتوى السرجوم العالي من اللوسين، حيث أنه من الواضح أن زيادة اللوسين الغذائي يمكن أن يحدث عوز النياسين بسبب تثبيطه لإنزيم ناقلة فسفوريبوزيل الكينولينات، وهو إنزيم أساسي في تحويل التربتوفان إلى NAD^+ (الشكل 52-4).



الشكل 4-52 : التخليق الحيوي لثنائي نوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين (NAD^+) وتقويضه. تكون زمرة 2´– الهيدروكسيلية (عند النجمة) في الريبوز التابع لقسم الأدينوزين مفسفتة في فسفات ثنائي نوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين ($NADP^+$). يستطيع الإنسان، وليس القطط، تأمين كامل احتياجه من النياسين بدءاً من التربتوفان إذا توافرت كمية كافية منه في الغذاء. حيث أنه في الحالة السوية، يأتي ثلثي الحاجة من هذا المصدر. (PRPP : -5 فسفوريبوزيل –1– بيروفسفات؛ QPRT: ناقلة كينولينات فسفوريبوزيل؛ PLP: بيريدوكسال فسفات).

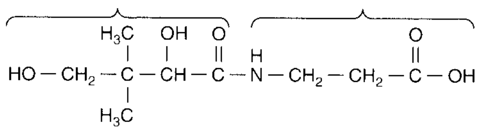
ومن الملاحظ أن البيريدوكسال فسفات، وهي الشكل النشيط للڤيتامين B_6، تتدخل أيضاً كتميم عامل في سبيل تخليق الـ NAD^+ من التربتوفان (الشكل 52-4)، لذلك يمكن لعوز الڤيتامين B_6 أن يعزز حدوث عوز في النياسين وتحوي أغلب الأطعمة في الغرب كميات كافية من التربتوفان لتأمين الاحتياجات من النياسين.

تضم الحالات الأخرى المؤدية إلى أعراض البلاجرا: إعطاء بعض الأدوية مثل الأيزونيازيد، ومتلازمة السرطاوي الخبيث، الذي يتحول فيه أيض التربتوفان نحو السيروتونين، وداء هارتنوب (Hartnup's disease) الذي يَضْعُف فيه امتصاص التربتوفان.

لقد استخدم حمض النيكوتينك (وليس النيكوتيناميد) علاجياً لتخفيض الكولسترول في البلازما. وهذا يعود إلى تثبيط تدفق الأحماض الدهنية الحرة من النسيج الشحمي، مما يؤدي إلى تشكيل أقل للبروتينات الشحمية الحاملة للكوليسترول، أي VLDLو IDL و LDL (الفصل 28). إلا أن المدخول العالي من الڤيتامين يمكن أن يسبب أذية كبدية.

حمض البانتوثينيك (Pantothenic Acid) :

يتشكل حمض البانتوثينيك عن طريق اتحاد حمض البانتويك و β– الأنين (الشكل 52-5).



الشكل 52-5 : حمض البانتوثينيك.

الشكل النشيط لحمض البانتوثينيك هو التميم الإنزيمي A (CoA) والبروتين الحامل للأسيل (ACP):

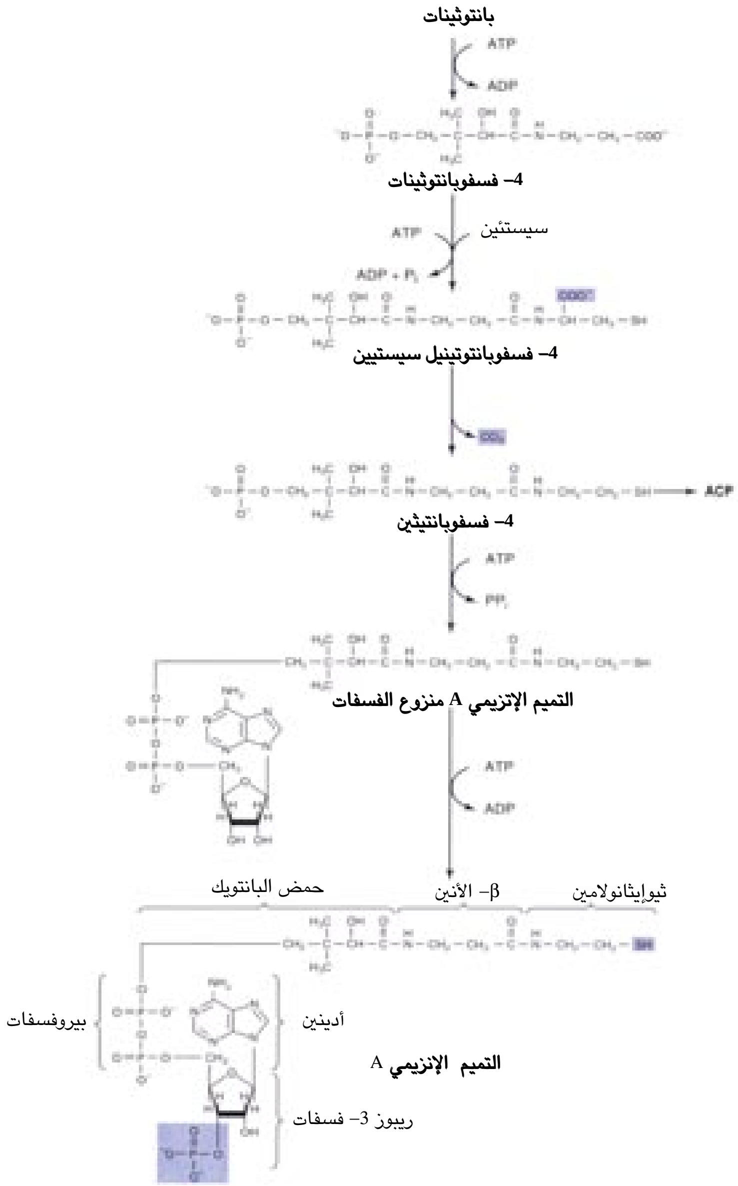
يمتص حمض البانتوثينيك بسهولة في الأمعاء ويخضع فيما بعد للفسفتة بوساطة الـ ATP ليشكل ´4– فسفوبانتوثينات (الشكل 52-6). وبإضافة السيستيين وإزالة زمرته الكربوكسيلية تكون المحصلة الصافية هي إضافة التيوإيتانولامين فيتولد بذلك 4– فسفوبانيثين وهي الزمرة الضميمية لكل من CoA و ACP. وعلى غرار التمائم الإنزيمية النشيطة للعديد من الڤيتامينات الأخرى الذوابة في الماء يحوي الـ CoA نوكليوتيد الأدينين لذلك يضاف الأدينين من الـ ATP إلى 4 –فسفوبانتيثين لتشكيل الـ CoA – منقوص الفسفات وتحدث الفسفتة الأخيرة مع الـ ATP بإضافة الفسفات إلى زمرة الهيدروكسيل –3´ من جزء الريبوز لتوليد الـ CoA (الشكل 52-6).

تعمل زمرة الثيول كحامل لجذور الأسيل في كل من CoA و ACP :

يجري هذا مع الـ CoA في تفاعلات دورة حمض الستريك (الفصل 18) وتخليق الأحماض الدهنية (الفصل 23) والأكسدة (الفصل 24) وتفاعلات الأستلة (للأدوية مثلاً) وتخليق الكوليسترول (الفصل 28). ويشترك ACP في التفاعلات المتعلقة بتخليق الأحماض الدهنية. ومن الشائع اختصار بنية الـ CoA الحر بالرمز CoA-SH الذي يشار فيه إلى زمرة SH التفاعلية في التميم الإنزيمي.

إن عوز حمض البانتوثينيك نادر:

يعود سبب ذلك إلى أن هذه المادة واسعة الانتشار في الأطعمة، وبخاصة في الأنسجة الحيوانية والحبوب الكاملة والبقوليات ومع ذلك فلقد نسبت متلازمة القدم المحروقة إلى عوز البانتوثينات عند مساجين الحرب، وهي تترافق مع تناقص سعة الأستلة.



الشكل 6-52 : التخليق الحيوي للتميم الإنزيمي A من حمض البانتوثينيك (ACP: البروتين الحامل للأسيل).

الڤيتامين B_6:

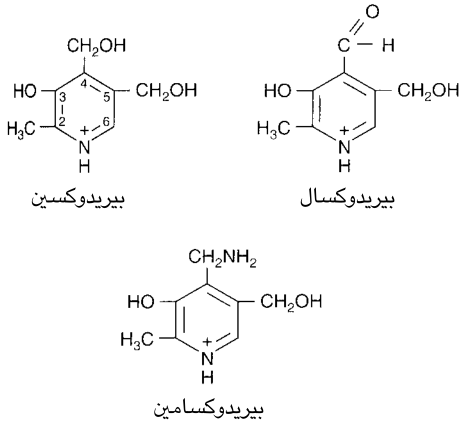
يتألف الڤيتامين B_6 من ثلاثة مشتقات بيريدينية وثيقة الصلة ببعضها البعض هي: البيريدوكسين (Pyridoxine) والبيريدوكسال (Pyridoxal) والبيريدوكسامين (Pyridoxamine) (الشكل 52-7) وما يقابلها من مركباتها الفسفاتية ويعد كل من البيريدوكسين والبيريدوكسال فسفات والبيريدوكسامين فسفات العناصر الرئيسية الممثلة للڤيتامين B_6 في الغذاء. ويكون للثلاثة فعالية ڤيتامينية متكافئة، لأنه يمكن أن يتحول أحدهما إلى الآخر في الجسم.

إن ڤيتامين B_6 النشيط هو البيريدوكسال فسفات:

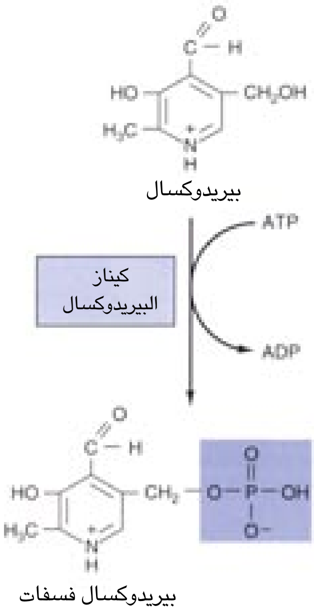
تمتص جميع أشكال الڤيتامين B_6 من الأمعاء؛ لكن تحدث حلمهة لبعض إسترات الفسفات خلال الهضم. والبيريدوكسال فسفات هو الشكل الرئيسي المنقول في البلازما. وتحوي معظم الأنسجة إنزيم كيناز البيريدوكسال القادر على تحفيز فسفتة الأشكال غير المفسفتة من الڤيتامين عن طريق الـATP إلى إستراتها الفسفاتية الموافقة (الشكل 52-8). وفي حين يكون البيريدوكسال فسفات هو التميم الإنزيمي الرئيسي المعبر عن فعالية الڤيتامين B_6 إلا أنه يمكن للبيريدوكسامين فسفات أن يعمل أيضاً كتميم إنزيمي نشيط.

البيريدوكسال فسفات هو التميم الإنزيمي لعدة إنزيمات في أيض الأحماض الأمينية:

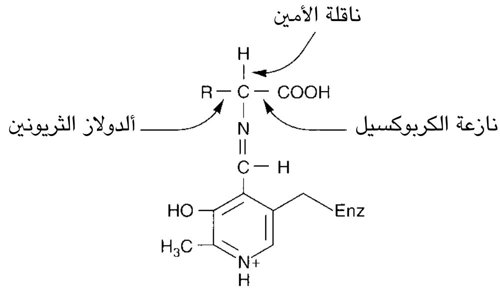
يستطيع البيريدوكسال فسفات بدخوله في تشكيل قاعدة شيف (Schiff Base) بين زمرته الألدهيدية والزمرة الأمينية لحمض أميني- α (الشكل 52-9)، أن يُسَهِّل حدوث تبدلات في الروابط الثلاث الباقية للكربون الأميني - α ليسمح إما بنقل الأمين (الشكل 31-4) أو بنزع الكربوكسيل (الشكل 33-9) أو بفعالية ألدولاز الثريونين (الشكل 32-11) على الترتيب. ويمثل (الشكل 52-10) دور البيريدوكسال فسفات في نقل الأمين.



الشكل 7-52 : أشكال الفيتامين B_6 الموجودة في الطبيعة.



الشكل 8-52 : فسفتة البيريدوكسال بوساطة كيناز البيريدوكسال لتشكيل فسفات البيريدوكسال.



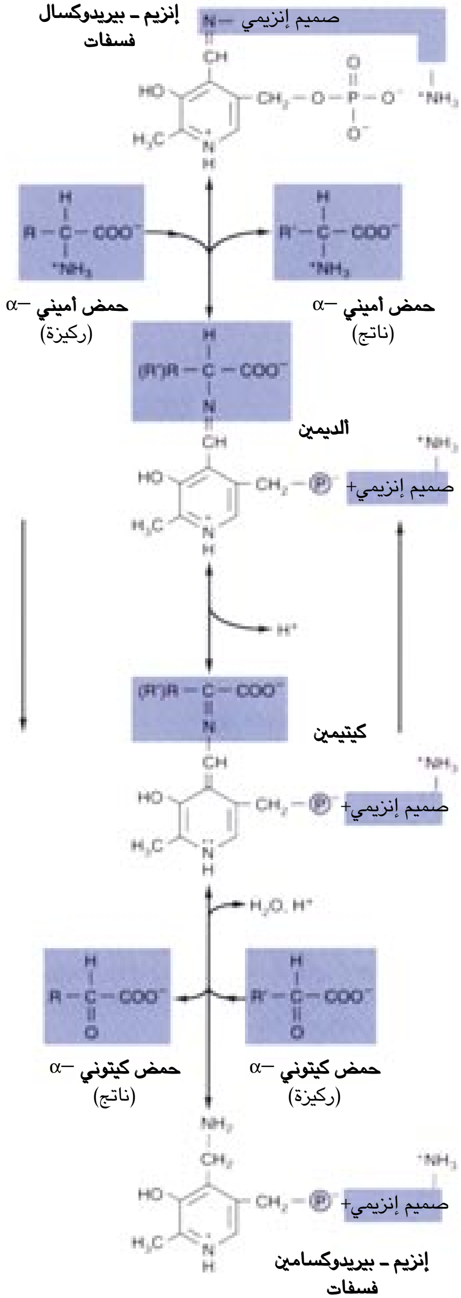
الشكل 52-9 : الروابط التكافؤية في الحمض الأميني- α التي يمكن أن تكون تفاعلية بارتباطها مع العديد من الإنزيمات النوعية للبيريدوكسال فسفات.

يقوم البيريدوكسال فسفات بوظيفته في تحلل الجليكوجين أيضاً:

إن التميم الإنزيمي جزء متمم لآليات فعل الفسفوريلاز، وهو الإنزيم الذي يتوسط تحطم الجليكوجين (الفصل 20). حيث أنه في هذا الفعل، يتشكل أيضاً أساس شيف الأولي مع الزمرة الأمينية ε- لثمالة الليسين في الإنزيم، والتي تبقى رغم ذلك سليمة خلال فسرلة (Phosphorolysis) الرابطة الجليكوزيدية 1⟵ 4 لتشكيل الجلوكوز 1- فسفات. وقد يكون الفسفوريلاز العضلي مسؤولاً عن نحو 70-80٪ من إجمالي الڤيتامين B_6 في الجسم.

قد يحدث عوز الڤيتامين B_6 خلال الإرضاع وعند متعاطي الكحول وأثناء المعالجة بالإيزونيازيد:

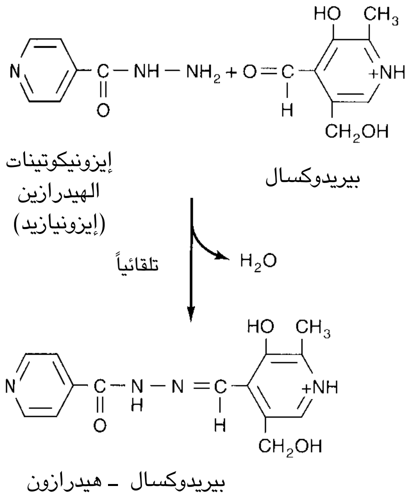
إن العوز الناجم عن نقص الڤيتامين B_6 وحده نادر الحدوث، ويكون أي عوز هو عادة جزءاً من عوز عام لمجموعة ڤيتامينات المركب B. ويعد كل من الكبد وسمك الإسقمري (الماكريل) والأڤوكادو والموز واللحوم والخضار والبيض من المصادر الجيدة لهذا الڤيتامين. وقد يعاني الكحوليون من العوز بسبب أيض الإيثانول إلى الأسيتالدهيد، الذي ينبه حلمهة فسفات التميم الإنزيمي. ويمكن الاستخدام الواسع للدواء المضاد للتدرن ـ الأيزونيازيد ـ أن يحرض حدوث عوز بالڤيتامين B_6 بسبب تشكيل الهيدرازون مع البيريدوكسال (الشكل 52-11).



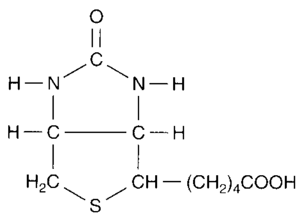
الشكل 52-10 : دور التميم الإنزيمي البيريدوكسال فسفات في نقل أمين الحمض الأميني – α. يتضمن الطور الأول إنتاج الحمض الكيتوني – α الموافق والإنزيم ـ بيريدوكسامين فسفات، ويلي ذلك انعكاس للعملية باستخدام حمض كيتوني – α جديد كركيزة. ومن الملاحظ أن البيريدوكسال فسفات يرتبط في المقام الأول مع صميمه الإنزيمي بوساطة رابطة أساس شيف بين زمرته الألدهيدية وزمرة أمينية في الإنزيم (الزمرة الأمينية– ε في ثمالة ليسين) وعن طريق رابطة أيونية بين زمرته الفسفاتية والإنزيم. وتحل الزمرة الأمينية – α في الحمض الأميني الركيزة مكان الزمرة – ε، مشكلة قاعدة شيف.

البيوتين (Biotin):

البيوتين هو مشتق إيميدازولي واسع الانتشار في الأطعمة الطبيعية (الشكل 52-12). وحيث أن نسبة كبيرة من حاجة الإنسان للبيوتين تأتي عن طرق التخليق من قبل الجراثيم المعوية فإن حدوث عوز البيوتين لا يكون ناجماً عن عوز غذائي بسيط وإنما بسبب عيوب في الانتفاع منه.



الشكل 52-11 : تشكل بيريدوكسال الهيدرازون الذي يفرغ بسرعة بدءاً من البيريدوكسال وأيزونيكوتينات الهيدرازين (أيزونيازيد).



الشكل 52-12 : البيوتين.

البيوتين هو تميم إنزيمي لإنزيمات الكربوكسيلاز:

يقوم البيوتين بوظيفته كمكون بالإنزيمات النوعية متعددة الوحيدات (الجدول 52-1) التي تحفز تفاعلات الكربوكسيلاز. وكل وحيدة هي معقد متعدد الإنزيمات يحوي ثلاثة مكونات على سلسلة واحدة متعددة الببتيد وهي تشمل كل من البروتين الحامل للبيوتين، وكربوكسيلاز البيوتين وناقلة الكربوكسيل. ويرتبط أيون الكربوكسيلات بـ N^1 من البيوتين، فيتولد متوسط منشط هو كربوكسي البيوتين المرتبط بالبروتين الحامل للبيوتين (الشكل 52-13).

وتتطلب هذه الخطوة -HCO3 و ATP و Mg^{2+} وأسيتيل -CoA (كمستفعل تفارغي). ثم تنقل زمرة الكربوكسيل المنشطة إلى ركيزة التفاعل، كالبيروڤات.

يمكن لاستهلاك البيض النيئ أن يسبب عوز البيوتين:

يحوي بياض البيض بروتيناً عطوباً بالحرارة هو الأڤيدين (Avidin)، الذي يتحد بشكل قوي جداً مع البيوتين، مما يمنع امتصاصه، فيحرض عوز البيوتين. وتشمل الأعراض الاكتئاب والهلوسات والألم العضلي والتهاب الجلد. إن غياب إنزيم سنتاز الهولوكربوكسيلاز الذي يربط البيوتين بثمالة الليسين من البروتين الحامل للبيوتين، هو سبب حدوث عوز الكربوكسيلاز المتعدد وهو يسبب أيضاً أعراض عوز البيوتين، مثل تراكم ركائز الإنزيمات المعتمدة على البيوتين، التي يمكن كشفها في البول.

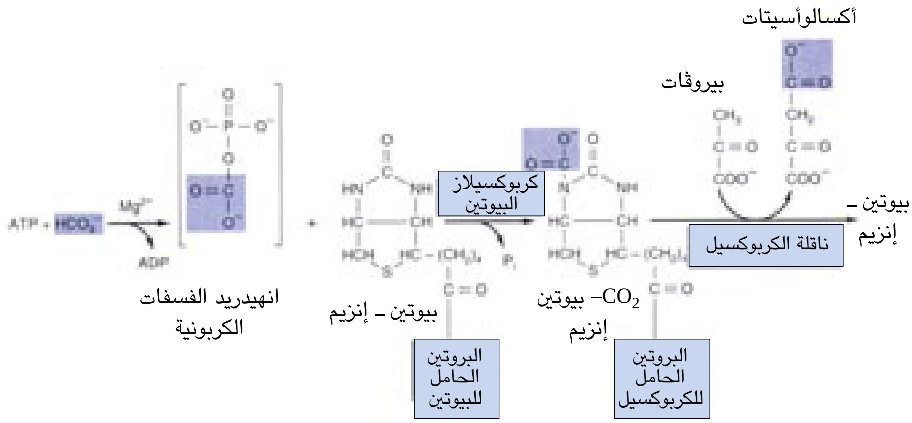
وتضم هذه المتأيضات كلا من اللاكتات و β ميثيل كروتونات، و β– هيدروكسي إيزوڤاليرات و β– هيدروكسي بروبيونات. ويعاني الأطفال المصابون بهذا العوز في بعض الأحيان من أمراض العوز المناعي. وهناك أيضاً اضطرابات وراثية مسؤول عنها عوز كربوكسيلاز وحيد.

الڤيتامين B_{12} :

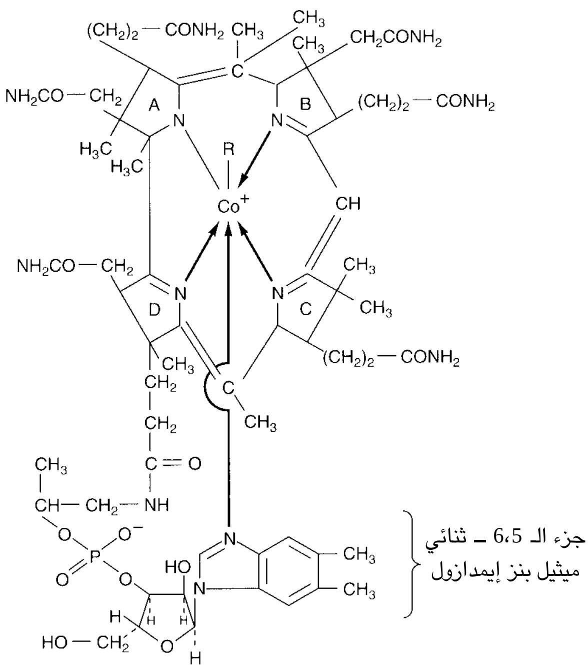
إن للڤيتامين B_{12} (الكوبالامين) بنية حلقية معقدة (حلقة الكورين) مشابهة لحلقة البرفيرين التي يضاف إليها أيون الكوبالت كمركز لها (الشكل 52-14). ويجري تخليق هذا الڤيتامين من قبل الكائنات الدقيقة حصراً. وبذلك فهو يغيب من النباتات، إلا إذا تلوثت بالكائنات الدقيقة، لكنه يتحول في كبد الحيوانات، حيث يوجد على شكل ميثيل الكوبالامين وأدينوزيل الكوبالامين وهيدروكسي الكوبالامين. لذلك فالكبد هو مصدر جيد للڤيتامين، كما هو حال الخمائر. والمستحضر التجاري لهذا الڤيتامين هو السيانوكوبالامين.

الإنزيم	الدور
كربوكسيلاز البيروڤات	هو التفاعل الأول في السبيل الذي يحول الطلائع ثلاثية الكربون إلى جلوكوز (استحداث السكر). توفير الأكسالوأسيتات لدورة حمض السيتريك.
كربوكسيلاز أسيتيل التميم A (CoA)	يخصص وحدات الأسيتيل لتخليق الحمض الدهني عن طريق تشكيل مالونيل التميم A
كربوكسيلاز بروبيونيل التميم A (CoA)	يحول وحدات بروبيونيل -CoA إلى D – ميثيل مالونيل CoA في سبيل تحول البروبيونات إلى سكسينات، وبذلك يمكنها الدخول لدورة حمض السيتريك
كربوكسيلاز B ـ ميثيل كروتونيل CoA-	يقوض اللوسين ومركبات الأيزوبرينويد

الجدول 52-1 : الإنزيمات المعتمدة على البيوتين عند الحيوانات.



الشكل 52-13 : تشكل معقد بيوتين CO_2 ومشاركته في كرسلة (ضم الكربوكسيل) البيروڤات. والإنزيم في هذا المثال هو كربوكسيلاز البيروڤات.



الشكل 52-14 : الڤيتامين B_{12} (الكوبالامين). قد تختلف الزمرة R لتعطي أشكالاً متعددة من الڤيتامين، مثل، CN=R في سيانوكوبالامين؛ OH= R في هيدروكسي كوبالامين؛ 5=R- ديوكسي أدينوزيل في ´5– ديوكسي أدينوزيل كوبالامين؛ =R CH3 في ميثيل كوبالامين.

إن العامل الداخلي ضروري لامتصاص الڤيتامين B_{12} :

يكون الامتصاص المعوي للڤيتامين B_{12} متواسطاً بمواقع مستقبلة في اللفائفي تتطلب أن يكون الڤيتامين مرتبطاً ببروتين سكري عالي النوعية، هو العامل الداخلي (Intrinsic factor) الذي يفرز من الخلايا الجدارية لمخاطية المعدة. وبعد الامتصاص، يرتبط الڤيتامين ببروتين بلازمي يعرف بناقل الكوبالامين. ويحتاج الڤيتامين إلى ناقل الكوبالامين II لنقله إلى الأنسجة. ويخزن الڤيتامين في الكبد (وهذا مميز للڤيتامين الذواب في الماء) بشكل مرتبط بناقل الكوبالامين I.

التمائم الإنزيمية النشيطة للڤيتامين B_{12} هي ميثيل الكوبالامين وديوكسي أدينوزيل الكوبالامين:

يتحرر الكوبالامين الحر، بعد نقله في الدم، إلى العصارة الخلوية للخلايا على شكل هيدروكسي الكوبالامين. وهو إما أن يتحول في العصارة الخلوية إلى ميثيل الكوبالامين، أو أن يدخل للمتقدرات ليتحول إلى 5– ديوكسي أدينوزيل الكوبالامين.

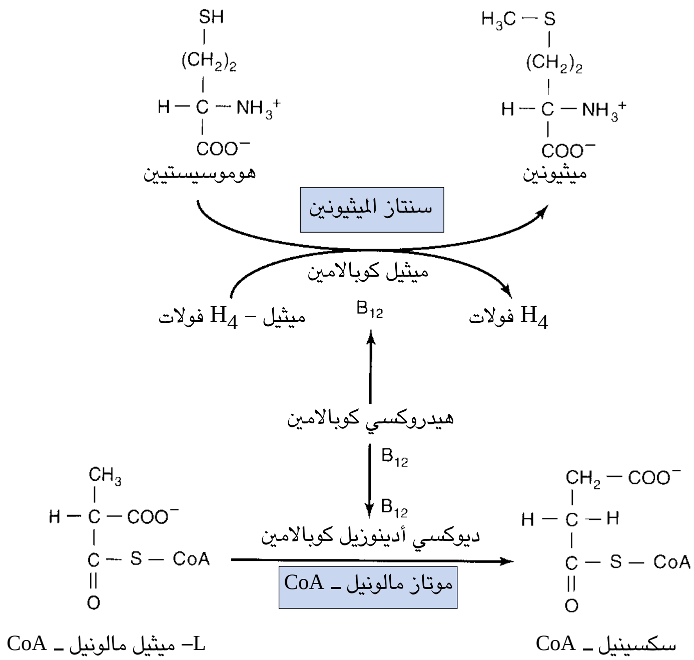
ديوكسي أدينوزيل الكوبالامين هو التميم الإنزيمي في تحول ميثيل مالونيل -CoA إلى سكسينيل CoA (الشكل 52-15):

هذا هو التفاعل الأساسي في سبيل تحول البروبيونات إلى عنصر في دورة حمض الستريك وهو لذلك مهم في عملية استحداث السكر (الشكل 21-2). له أهمية خاصة عند المجترات، لأن البربيونات هي المنتج الرئيسي للتخمر الجرثومي في الكرش.

ميثيل الكوبالامين هو تميم إنزيمي في التحول المشترك (1) للهوموسيستين إلى الميثونين، و (2) لميثيل رباعي هيدروالفولات إلى رباعي هيدروالفولات (الشكل 52-15):

يجري في هذا التفاعل نقل زمرة الميثيل المرتبطة بالكوبالامين إلى الهوموسيستيين لتشكيل الميثيونين، ثم يقوم الكوبالامين بنزع زمرة الميثيل من ـN^5

ميثيل رباعي هيدروالفولات ليشكل رباعي هيدروالفولات. وتكون الفوائد الأيضية لهذا التفاعل هي المحافظة على مخزون الميثيونين وجعل رباعي هيدروالفولات متاحا للمشاركة في تخليقات البورين والبيريميدين والحمض النووي.



الشكل 15-52: التفاعلان المهمان المحفزان بإنزيمات معتمدة على التميم الإنزيمي للفيتامين B_{12}. يؤدي عوز الفيتامين B_{12} إلى تثبيط فعالية كل من موتازميثيل مالونيل -CoA وسنتاز الميثيونين، مما يسبب بيلة حمض الميثيل مالونيك وبيلة الهوموسيستين واحتجاز الفولات على شكل H_4 فولات (مصيدة الفولات).

يؤدي عوز الڤيتامين B_{12} إلى فقر الدم ضخم الأرومات :

يطلق على الحالة، التي يتعطل فيها الامتصاص بسبب نقص العامل الداخلي (أو بسبب استئصال المعدة)، اسم فقر الدم الوبيل (Pernicious Anemia). ويكون النباتيون في خطر من عوز غذائي حقيقي، لأن الڤيتامين يوجد فقط في الأطعمة ذات المنشأ الحيواني أو في الكائنات الدقيقة؛ بحيث أن الأطعمة الملوثة بالكائنات الدقيقة مفيدة وفقاً لذلك. ويؤدي العوز إلى خلل في تفاعل سنتاز الميثيونين. وينجم فقر الدم عن خلل في تخليق الدنا (DNA) مما يمنع الانقسام الخلوي وتشكيل نوى للكريات الحمراء الجديدة مع تراكم تال للأرومات الضخمة في نقي العظام ووجود كريات حمراء غير ناضجة في الدوران. وينتج الخلل في تخليق البورينات والبيريميدينات عن عوز رباعي هيدروالفولات كنتيجة لاحتجاز الفولات على شكل ميثيل رباعي هيدروالفولات (يعرف باسم «مصيدة الفولات») (الشكل 52-15). وتحدث أيضاً بيلة الهوموسيستيين وبيلة حمض ميثيل المالونيك وقد يكون الاضطراب العصبي المترافق مع عوز الڤيتامين B_{12} ثانوياً بالنسبة لعوز الميثيونين ويؤدي إلى عمليات مَثيلة معيبة.

لقد وصفت أربع اضطرابت وراثية في أيض الكوبالامين. اثنان منها يؤثران في تخليق ديوكسي أدينوزيل الكوبالامين فقط، وفي الإثنين الآخرين يكون المرضى غير قادرين على تخليق إما ديوكسي أدينوزيل الكوبالامين أو ميثيل الكوبالامين.

حمض الفوليك (Folic Acid):

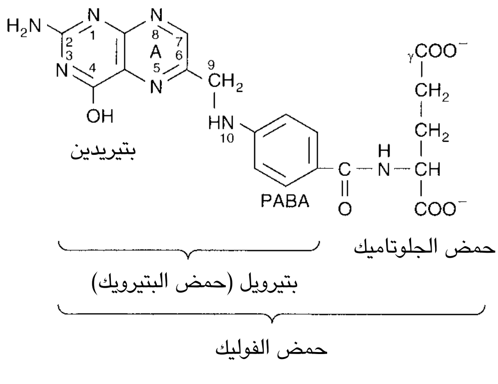
الفولاسين (Folacin) هو المصطلح الجنيس لحمض الفوليك والمواد ذات الصلة التي تتمتع بالفعالية الكيميائية الحيوية التي لحمض الفوليك.

يتألف حمض الفوليك. أو الفولات، من أساس البتيريدين (Pteridine) المرتبط بجزيء واحد من كل من حمض بارا ـ أمينوبنزويك (PABA) وحمض الجلوتاميك (الشكل 52-16). وتكون الحيوانات غير قادرة على تخليق PABA أو على ربط الجلوتامات بحمض البتيرويك لذلك فهي تحتاج للفولات في غذائها؛ ويعد كل من

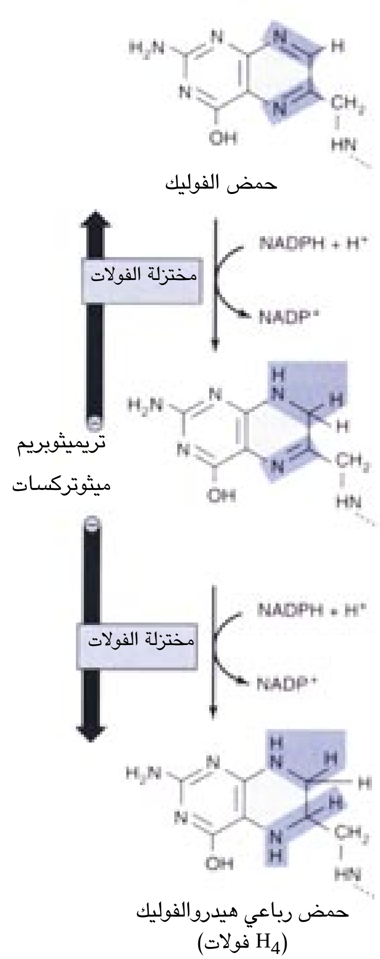
الخميرة والكبد والخضراوات الورقية مصادر رئيسية له. ويوجد حمض الفوليك في النباتات بشكل مركب مقترن متعدد الجلوتامات، مؤلف من سلسلة عديدة الببتيد المرتبطة بالموقع γ – وفيه سبع ثمالات جلوتامات. وتوجد الفولات الرئيسة في الكبد بشكل مقترن خماسي الجلوتاميل.

الفولات النشيطة هي رباعي هيدروالفولات (H_4-Folate) ، فولات -H_4، FH_4):

تشطر مشتقات الفولات الغذائية بإنزيمات معوية نوعية لتعطي الفولات أحادية الجلوتاميل الجاهزة للامتصاص. ثم يرجع معظمها إلى رباعي هيدروالفولات في الخلية المعوية (الشكل 52-17) بوساطة إنزيم ردكتاز الفولات، الذي يستخدم NADPH كمانح للمكافئات المرجعة. ومن المحتمل أن تكون مركبات رباعي هيدروالفولات متعددة الجلوتامات هي التمائم الإنزيمية الوظيفية في الأنسجة.



الشكل 52-16: بنية وترقيم ذرات حمض الفوليك.



الشكل 17-52: إرجاع حمض الفوليك إلى حمض ثنائي هيدروفوليك وإرجاع ثنائي هيدروالفوليك إلى حمض رباعي هيدروالفوليك بوساطة إنزيم مختزلة الفولات. يعد التريميثوبريم (Trimethoprim) مثبطاً انتقائياً لمختزلة الفولات في الجراثيم سلبية الجرام وله تأثير ضعيف في الإنزيم عند الثدييات. لذلك فهو يستخدم كمضاد حيوي. أما الميثوتريكسات فترتبط بقوة أكبر وتستخدم كدواء مضاد للسرطان.

إن FH_4 هي حامل الوحدات أحادية الكربون المنشطة:

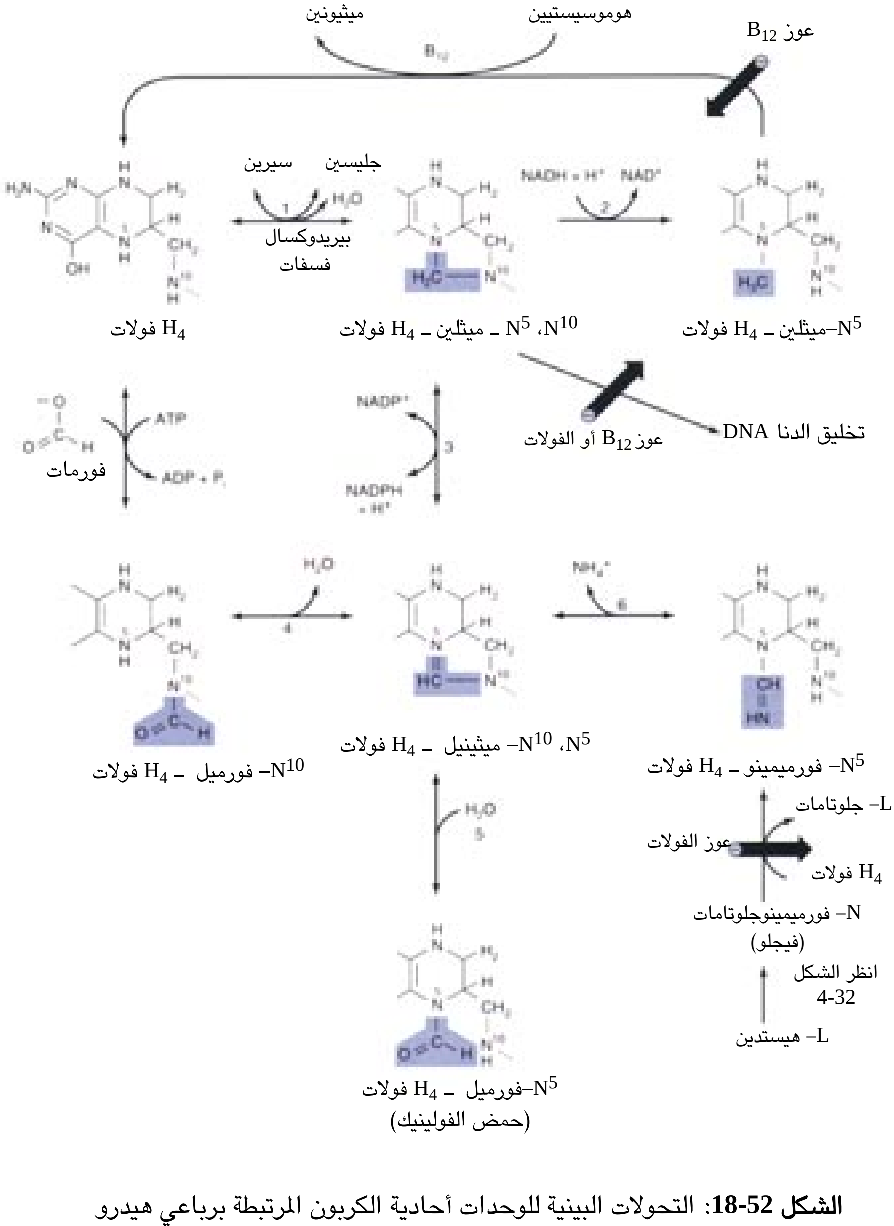
تمثل الوحدات وحيدة الكربون المحمولة بوساطة الفولات H_4 (FH_4) سلسلة من الحالات المختلفة للأكسدة، أي الميثيل والميثيلين والميثينيل والفورميل والفورميمينو. وجميعها تتحول فيما بينها أيضياً (الشكل 52-18).

إن المصدر الرئيسي للوحدة وحيدة الكربون هو السيرين في شكل زمرة الميثيلين التي تنقلها بشكل عكسي إلى الفولات H_4 ليتشكل الجليسين و N^5, N^{10} – ميثيلين H_4 – فولات، الذي يلعب دوراً مركزياً في أيض الوحدة أحادية الكربون. ويمكن أن يرجع (يختزل) إلى N_5 –ميثيل H_4– فولات، الذي له دور مهم في مثيلة الهوموسيستين إلى ميثيونين باشتراك ميثيل الكوبالامين كتميم عامل (الشكل 52-15). ويمكن بشكل بديل، أن يتأكسد إلى N^5, N^{10}– ميثينيل H_4– فولات، الذي يمكن بعد ذلك أن يتميه إما إلى N^{10} – فورميل H_4 – فولات أو إلى N^5 ـ فورميل H_4 – فولات. ويعرف الأخير أيضاً بحمض الفولينيك، وهو شكل ثابت يمكن أن يستخدم لإعطاء الفولات المرجعة.

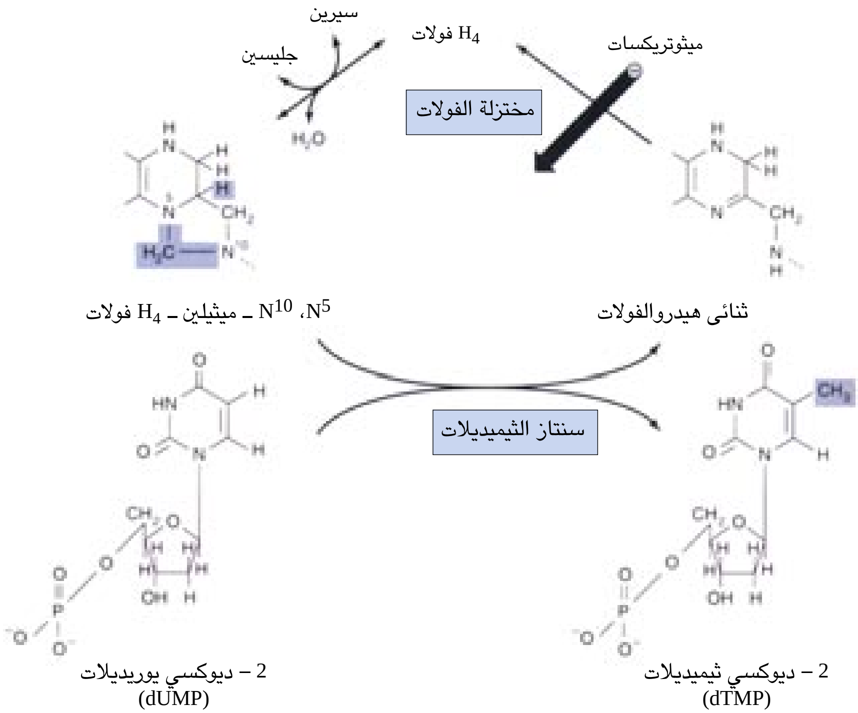
تنقل زمرة الفورميمينو من الفورميمينوجلوتامات (الفيجلو: Figlu) وهي مقوضة الهيستيدين إلى H_4 فولات لتشكيل N^5 ـ فورميمينو H_4 فولات. وفي عوز الفولات، يتراكم الفيجلو بعد إجراء اختبار فموي بالهيستيدين.

يسبب عوز الفولات فقر الدم ضخم الأرومات:

إن تفسير هذه الحالة مشابه لما سبق ذكره فيما يتعلق بتأثيرات عوز الڤيتامين B_{12}.حيث يعطي N^5, N^{10} – ميثيلين H_4 – فولات زمرة الميثيل في تشكيل التيميديلات، وهي الطليعة الضرورية لتخليق الدنا DNA وتشكيل الكريات الحمراء (الشكل 52-19). وبشكل مترافق مع إرجاع الميثيلين إلى زمرة الميثيل، تجري أكسدة H_4 – فولات إلى ثنائي هيدروالفولات التي يجب أن تتحول من جديد إلى H_4 – فولات لدورة عمل جديدة. لذلك فالخلايا التي تقوم بتخليق الثيميديلات (للدنا DNA) تتأثر بشكل خاص بمثبطات مختزلة الفولات مثل الميثوتريكسات (Methotrexate) (الشكلان 52-17 ، 52-19).



الشكل 18-52: التحولات البينية للوحدات أحادية الكربون المرتبطة برباعي هيدرو الفولات.



الشكل 19-52: نقل زمرة ميثيل من N^5, N^{10} ميثيلين – H_4 فولات إلى ديوكسي يوريديلات لتوليد ديوكسي ثيميديلات وثنائي هيدروالفولات (H_2 فولات).

إن تعقيدات التآثر بين الڤيتامين B_{12} والفولات هو نتيجة إسهامهما المشترك في تفاعل سنتاز الميثيونين. وبذلك فإنه يمكن التخفيف من وطأة فقر الدم ضخم الأرومات الناجم عن عوز الڤيتامين B_{12} بإعطاء الفولات في الغذاء، لكن هذه المعالجة لن تشفي من بيلة الهوموسيستين أو من بيلة حمض ميثيل المالونيك أو من الاضطرابات العصبية المرافقة لعوز الڤيتامين B_{12}.

إن التزويد بـ 400 ميكروجرام من حمض الفوليك يومياً خلال فترة الإخصاب يمكن أن ينقص بشكل ملحوظ حدوث عيوبٍ بالأنبوب العصبي كالسنسنة المشقوقة (Spina bifida). ومن المهم أيضاً المحافظة على تزويد كاف من حمض الفوليك في المراحل المتأخرة من الحمل وما بعده حيث تعاني العديد من النساء اللاتي في مستوى متدن من التغذية من تبدلاتٍ في الأرومات الضخمة.

حمض الأسكوربيك (الفيتامين C) :

إن بنية حمض الأسكوربيك (Ascorbic Acid) (الشكل 52-20) تذكر بالجلوكوز، الذي يشتق منه عند الغالبية العظمى من الثدييات (انظر الشكل 22-4) إلا أن غياب إنزيم أكسيداز L- جولونولاكتون عند الفقاريات بما في ذلك الإنسان وعدد من الحيوانات الأخرى كالخنازير الغينية وبعض الخفافيش والطيور و الأسماك واللافقاريات، يمنع تخليق حمض الأسكوربيك.

الفيتامين C النشيط هو حمض الأسكوربيك نفسه، المانح للمكافئات المرجعة :

عندما يعمل حمض الأسكوربيك كمانح للمكافئات المرجعة فإنه يؤكْسَد إلى حمض الأسكوربيك منزوع الهيدروجين الذي يمكن بدوره أن يعمل كمصدر للفيتامين. إن حمض الأسكوربيك عامل مرجع بكمون هيدروجيني يبلغ +0.08 فولط، مما يجعله قادراً على إرجاع مركبات كالأكسجين الجزيئي والنترات والسيتوكرومات a و c. ومازالت آلية فعل حمض الأسكوربيك في العديد من هذه الفعاليات بعيدة عن الوضوح، لكن فيما يلي بعض العمليات التي جرى توثيقها أفضل من غيرها والتي تحتاج لحمض الأسكوربيك. حيث أنه في العديد من هذه العمليات، لا يشارك حمض الأسكوربيك بشكل مباشر، لكنه يلزم للمحافظة على تميم العامل المعدني في الحالة المرجعة. وهذا يتضمن Cu^{+} في الأكسيجيناز الأحادية و Fe^{+2} في الأكسيجيناز الثنائية.

(1) في تخليق الكولاجين: هو ضروري هنا لهدرلة البرولين والليسين (الفصل57، الشكل 30-11).

(2) في تدرك التيروزين. تتطلب أكسدة P–هيدروكسي فينيل البيروڤات إلى الهوموجنتيزات وجود الڤيتامين C، الذي يمكنه أن يحافظ على الحالة المرجعة للنحاس الضروري للفعالية الأعظمية (الشكل 32-13). وتُحَفَّز الخطوة التالية بوساطة ثنائي أكسيجيناز الهوموجنتيزات، الذي هو إنزيم يحوي الحديدوز (ثنائي التكافؤ) الذي يحتاج أيضاً لحمض الأسكوربيك.

(3) في تخليق الإبينفرين من التيروزين، حيث يحتاج إليه في خطوة β– هيدروكسيلاز الدوبامين (الشكل 49-1).

(4) في تشكيل الأحماض الصفراوية: يلزم في خطوة α7 ـ هيدروكسيلاز الأولية.

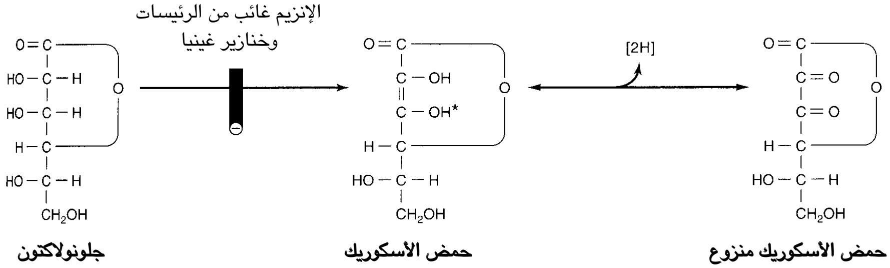
(5) يحوي قشر الكظر كميات كبيرة من الڤيتامين C الذي يستنزف بسرعة عندما تنبه الغدة من قبل الهرمون موجه قشر الكظر والسبب في ذلك غامض، لكن يتضمن تكون الستيرويدات عدة سبل تخليق إرجاعي.

(6) يتعزز امتصاص الحديد بشكل كبير بوجود الڤيتامين C.

(7) يمكن أن يعمل الڤيتامين C كمضاد أكسدة عام ذواب في الماء مثلما يفعل في تخفيض أكسدة التوكوفيرول في الأغشية وقد يثبِّط تشكل النتروزامينات خلال الهضم.

يسبب عوز الأسكوربيك البثع:

البثع (الاسقربرط: Scurvy) هو المتلازمة التقليدية لعوز الڤيتامين C وهي تتعلق بعيب في تخليق الكولاجين، الذي يتظاهر بالنزوف تحت الجلد والنزوف الأخرى والوهن العضلي واللثة المتورمة الطرية وارتخاء الأسنان. ويعالج باستهلاك الفاكهة والخضار الطازجة. وتكفي المخازن الطبيعية للڤيتامين C إلى فترة تمتد من 3-4 أشهر قبل ظهور علامات البثع.



الشكل 52-20: حمض الأسكوربيك ومصدره عند الثدييات باستثناء الرئيسات وخنازير غينيا، وأكسدته إلى حمض الأسكوربيك منزوع الهيدروجين (عند النجمة: تتأين في الأسكوربات).

الخلاصة:

1 – الفيتامينات جميعها غذيات عضوية ذات وظائف أيضية أساسية متعددة تلزم بكميات صغيرة في الغذاء، لأنه لا يمكن تخليقها في الجسم.

2 – جميع الفيتامينات الذوابة في الماء فيما عدا الفيتامين C، عناصر في المجموعة B وتعمل كتمائم عاملة إنزيمية.

3 – إن الثيامين هو تميم عامل في نزع الكربوكسيل التأكسدي للأحماض الكيتونية -α وهو إنزيم مهم في سبيل البنتوزفسفات ولناقلة الكيتول.

4 – إن كل من الريبوفلافين والنياسين تمائم عاملة مهمة في تفاعلات الأكسدة والإرجاع. ويوجد الريبوفلافين كزمرة ضميمية في الإنزيمات الفلافوبروتينية كفلافين أحادي النوكليوتيد وكفلافين أدينين ثنائي النوكليوتيد، في حين يوجد النياسين في التمائم العاملة NAD و NADP للعديد من إنزيمات نازعة الهيدروجين.

5 – يوجد حمض البانتوثينيك في تميم الإنزيم A والبروتين الحامل للأسيل، الذي يعمل كحامل لزمر الأسيل في عدة تفاعلات مهمة، في حين يكون البيريدوكسال فسفات تميم إنزيمي لإنزيمات متعددة في أيض الأحماض الأمينية بما في ذلك نقل الأمين.

6 – البيوتين هو تميم إنزيمي لإنزيمات كربوكسيلاز متعددة بما في ذلك كربوكسيلاز أسيتيل -CoA وهو الإنزيم المنظم للمعدل في سبيل تكون الشحم، وكربوكسيلاز البيروڤات، المهم في استحداث السكر.

7 – بالإضافة إلى تمتعها بوظائف منفصلة فإن للڤيتامين B_{12} ولحمض الفوليك دور في تأمين الثمالات أحادية الكربون لتخليق الحمض النووي.

8 – حمض الأسكوربيك هو مضاد تأكسد ذواب في الماء يحافظ على العديد من التمائم العاملة المعدنية في الحالة المرجعة.

9 – يمهد غياب الڤيتامينات الذوابة في الماء من الغذاء لحدوث حالات عوز متعددة. يؤدي غياب ڤيتامين واحد إلى متلازمة عوز مميزة.

***References:**

Benkovic SJ: On the mechanism of action of folate and biopterin-requiring enzymes. *Annu Rev Biochem* 1980; 49:227.

Dakshinamurti K, Chauhan J: Biotin. *Vitam Horm* 1989; 45:337.

Hayashi H et al: Recent topics in pyridoxal 5'-phosphate enzyme studies. *Annu Rev Biochem* 1990;59:87.

Knowles JR: The mechanism of biotin-dependent enzymes. *Annu Rev Biochem* 1989;58: 195.

O1son RE et al (editors): *Present Knowledge in Nutrition,* 5th ed. The Nutrition Foundation, Inc, 1984.

Padh H: Vitamin C: Newer insights into its biochemical functions. *Nutr Rev* 1991 ;49:65.

Passmore R, Eastwood, MA: *Human Nutntion and Dietetics,* Churchill Livingstone, 1986.

Rubin RH, Swanz MN: Trimethoprim-sulfamethoxazole. *N Engl J Med* 1980;303:426.

Sebrell WH Jr: History of pellagra. *Fed Proc* 1981 ;40: 1520.

Seetharam B, Alpers DH: Absorption and transport of cobalamin (vitamin B_{12}). *Annu Rev Nutr* 1982;2:343.

Shane B: Folylpolyglutamate synthesis and role in the regulation of one-carbon metabolism. *Vitam Horm* 1989; 45:263.

الفصل الثالث والخمسون

بنية الڤيتامينات الذوابة في الشحم ووظيفتها

Structure and Function of the Lipid-Soluble Vitamins

مقدمة:

الڤيتامينات الذوابة في الشحم (الذوابة في الدهن) هي جزيئات لا قطبية كارهة للماء جميعها من مشتقات الإيزوبرين (Isoprene) (الشكل 53-1). ولا يمكن تخليقها في الجسم بكميات كافية، لذلك يجب الحصول عليها من الغذاء. ويمكن أن تمتص بفعالية فقط عندما يكون امتصاص الدهن سوياً. وهي حالما تُمتص، فإنها يجب أن تنقل في الدم، مثل أي شحم آخر لا قطبي، في البروتينات الشحمية أو مرتبطة ببروتينات رابطة نوعية. إن للڤيتامينات الذوابة في الشحم وظائف متنوعة مثل الڤيتامين A في الرؤية، والڤيتامين D لأيض الكلسيوم والفسفات، والڤيتامين E كمضاد تأكسد، والڤيتامين K في تخثر الدم. ويستثنى الڤيتامين D فقط من بين هذه الڤيتامينات، فهو يعد في الحقيقة طليعة هرمونية (Prohormone).

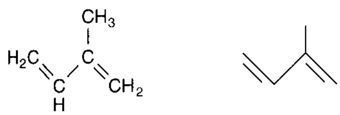
الأهمية الطبية البيولوجية:

يمكن للحالات التي تؤثر في هضم الڤيتامينات الذاوبة في الشحم وامتصاصها،

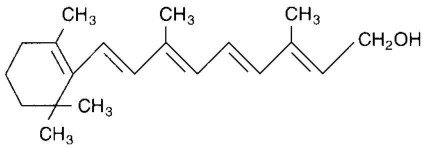
كالإسهال الدهني واضطرابات الجملة الصفراوية، أن تؤدي جميعها إلى حالات عوز. ويسبب عدم الكفاية الغذائية أو حالات العوز الناجمة عن سوء الامتصاص متلازمات نتيجة عدم إنجاز الڤيتامينات لوظائفها الفيزيولوجية؛ فعوز الڤيتامين A يسبب العمى الليلي وجفاف الملتحمة، ويؤدي عوز الڤيتامين D إلى الرخد عند الأطفال الناشئين وتلين العظام عند البالغين؛ وفي عوز الڤيتامين E، الذي يندر حدوثه، قد تنشأ اضطرابات عصبية وفقر دم عند حديثي الولادة، ويؤدي عوز الڤيتامين K، وهو نادر الحدوث عند البالغين، إلى نزف حديثي الولادة. وبسبب قدرة الجسم على تخزين الفائض من الڤيتامينات الذوابة في الشحم، فإن السمية يمكن أن تنتج من المدخول المفرط للفيتامين A و D. ويعد كل من الڤيتامين A و β كاروتين، طليعة الڤيتامين A، والڤيتامين E مضادات تأكسد. وقد نسبت أدوارهم المحتملة في الوقاية من التصلب العصيدي والسرطان إلى خصائصهم المضادة للتأكسد.

الڤيتامين A:

الڤيتامين A أو الريتينول، هو مركب متعدد الأيزوبرينويد، يحوي حلقة السيكلوهكسينيل (الشكل 53-2). والڤيتامين A هو الاسم الجنيس الذي يشير إلى جميع المركبات من مصادر حيوانية التي تبدي الفعالية الحيوية للڤيتامين A. وهو يختزن بشكل رئيسي على شكل إسترات الريتينول في الكبد. وتنجز الوظائف الرئيسية للڤيتامين A في الجسم عن طريق الريتينول (Retinol) ومشتقيه الريتينال (Retinal) وحمض الريتينويك (Retinoic). وقد استخدم مصطلح الريتينويدات (Retinoids) لوصف كل من الأشكال الطبيعية والمضاهئات الصنعية للريتينول.



الشكل 53-1 : شكلان تمثيليان لوحدة الأيزوبرين.



الشكل 2-53 : الريتينول (الفيتامين A).

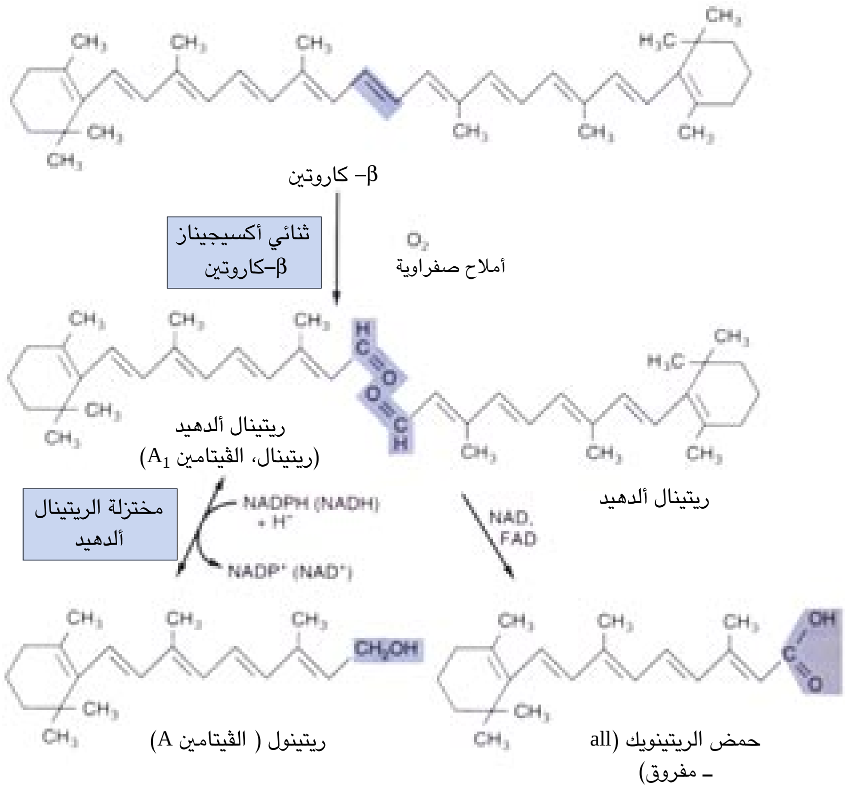
للفيتامين A طليعة فيتامينية هي β ـ كاروتين :

يوجد الفيتامين A في الخضار على شكل طليعة فيتامينية (Provitamin) بشكل الصباغ الأصفر β ـ كاروتين (β-carotene)، الذي يتألف من جزيئين من الريتينال مرتبطين عند النهاية الألدهيدية لسلاسلهما الكربونية (الشكل 53-3) لكن نظراً لأنه لا يجري أيض β ـ كاروتين بفعالية إلى الفيتامين A، لذلك تكون فعالية β ـ كاروتين هي سدس فعالية المصدر الفعال للفيتامين A كريتينول فقط، وزناً لوزن. وتعرف المركبات المشابهة لـ β – كاروتين باسم الكاروتينويدات (Carotenoids).

يترافق هضم الفيتامين A مع هضم الشحميات، ثم تطرأ عليه تحولات في مخاطية الأمعاء:

تكون إسترات الريتينول المذابة في الدهن الغذائي مبعثرة في قطيرات صفراوية وتُحلمَه في التجويف المعوي، ويلي ذلك الامتصاص مباشرة إلى الظهارة المعوية. ويمكن أن تنشطر الكاروتينات β ـ المتناولة تأكسدياً بفعل ثنائي أكسيجيناز β ـ كاروتين، (الشكل 53-3). ويستعمل هذا التشطر الأكسجين الجزيئي، وهو يتعزز بوجود الأملاح الصفراوية، ويولّد جزيئين من ألدهيد الريتينال (الريتينال). ولا يمكن حدوث هذا التفاعل عند القط، الذي يجب أن يحوي غذاؤه الفيتامين A المتشكل مسبقاً. ويجري في المخاطية المعوية إرجاع الريتينال إلى الريتينول بردكتاز ألدهيد ريتينال نوعي باستعمال الـ NADPH. ويتأكسد جزء صغير من الريتينال إلى

حمض الريتينيويك. ويُؤستر معظم الريتينول مع أحماض دهنية مشبعة، وتنجبل بالدقائق الكيلوسية اللمفية (الفصل 27)، التي تدخل إلى مجرى الدم وهذه بدورها تتحول إلى بقايا الدقائق الكيلوسية، التي يقبطها الكبد مع محتواها من الريتينول. ويمكن أن تتملص الكاروتينويدات من بعض هذه العمليات، وتمر مباشرة إلى الدقائق الكيلوسية.



الشكل 53-3 : β ـ كاروتين وانشطاره إلى ريتينالدهيد. ويبين الشكل أيضاً إرجاع الريتينالدهيد إلى الريتينول وأكسدة الريتينالدهيد إلى حمض الريتينويك. ويتشكل أيضاً. حمض الريتينويك المقرون – 9 والمقرون –13.

يختزن الڤيتامين A في الكبد ويتحرر إلى الدم مرتبطاً ببروتينات رابطة:

يختزن الڤيتامين A في الكبد على شكل إستر في الخلايا الشحمية (الخلايا النجمية المحيطة بالجيبياني)، على الأغلب بشكل معقد بروتيني سكري شحمي. ولنقله إلى الأنسجة، فهو يحلمه ويرتبط الريتينول إلى بروتين رابط لصميم الريتينول (RBP). ويعالج الناتج RBP – الكامل (Holo-RBP) في جهاز جولجي ويفرز إلى البلازما. وتقبطه الأنسجة عن طريق مستقبلات على السطح الخلوي. وينقل حمض الريتينويك في البلازما مرتبطاً بالألبومين. وعندما يصبح داخل الخلايا غير الكبدية يرتبط الريتينول بالبروتين الرابط للريتينول الخلوي (CRBP).

تحدث سمية الڤيتامين A (فرط الڤيتامين A) بعد أن يتم تجاوز سعة الـ RBP، وتتعرض الخلايا للريتينول غير المرتبط. ويمكن أن يحدث هذا مع الاستخدام المفرط لإضافات الڤيتامين A، وقد لوحظ ذلك عند مستكشفي القطب الشمالي الذين يستهلكون كبد الدب القطبي، لأن الدببة القطبية تقع في نهاية سلسلة الڤيتامين A الغذائية (أي لديهم كميات كبيرة منه) ويجب تجنب استهلاك الكبد في فترة الحمل بسبب التأثيرات الماسخة (Teratogenic) للتراكيز المرتفعة من الڤيتامين.

يمتلك كل من الريتينول والريتينال وحمض الريتينويك وظائف بيولوجية فريدة:

يتحول الريتينول والريتينال بينياً بوجود إنزيمات نازعة الهيدروجين أو المختزلة التي تتطلب NAD أو NADP– الموجودة في العديد من الأنسجة. إلا أنه حالما يتشكل حمض الريتينويك من الريتينال لا يستطيع أن يتحول من جديد إلى الريتينال أو الريتينول. لذلك يستطيع حمض الريتينويك أن يدعم النمو والتمايز، لكنه لا يستطيع أن يحل مكان الريتينال في دوره في الإبصار أو مكان الريتينول في دعمه للجهاز التوالدي.

يعمل الريتينول وحمض الريتينويك كالهرمونات الستيرويدية:

عندما يُقبط الريتينول إلى CRBP، فإنه ينقل حول الخلية ويرتبط بالبروتينات النووية، حيث من المحتمل أن يسهم في التحكم بتعبير جينات معينة. ولذلك فإن الڤيتامين A في هذا الشأن يسلك على نحو مشابه للهرمونات الستيرويدية. وقد تم وصف مستقبلات نووية لحمض الريتينويك (مفروق ـ all) ولحمض الريتينويك مقرون – 9. وهذه هي عناصر في عائلة كبيرة من البروتينات المستقبلة لكل من الستيرويدات والهرمونات الدرقية وحمض الريتينويك. ويتدخل حمض الريتينويك في تعزيز تجديد أطراف البرمائيات، وفي مراقبة تخليق الشحم الفسفوري للعامل الفعال في السطح بالرئة. ويمكن أن تعزى الحاجة للڤيتامين A للتوالد السوي إلى هذه الوظيفة.

الريتينال هو مكون في الصباغ الإبصاري الرودوبسين:

يوجد الرودوبسين (Rhodopsin) في الخلايا العصوية في الشبكية، وهي المسؤولة عن الرؤية في الضوء الضعيف. ويرتبط الريتينال ـ المقرون ـ 11، وهو مصاوغ للريتينال – المفروق – all، نوعياً بالبروتين البصري الأبسين (Opsin) ليشكل الرودوبسين (الشكل 53-4). وعندما يتعرض الرودوبسين للضوء، فإنه يتفارق ويشكل الريتينال ـ المفروق ـ all والأُبسين. ويترافق هذا التفاعل مع تبدل في الهيئة الفراغية مما يحرض حدوث تغيير في النفوذية تجاه الكاتيونات وزيادة استقطاب الغشاء وتحريض الدفعة العصبية. ويشترك في هذه السلسلة بروتين G- هو الترانسدوسين (Transducin)، الذي يسمح بحلمهة cGMP بالفسفوداي إستيراز، مسبباً تناقصاً في النفوذية تجاه Na^+ مع الازدياد التالي في استقطاب غشاء الشبكية.

يسهم حمض الريتينويك في تخليق البروتينات السكرية:

يمكن أن يكون هذا مسؤولاً، جزئياً، عن فعل حمض الريتينويك في تعزيز نمو الأنسجة وتمايزها. وقد افترض أن فسفات الريتينويك تعمل كحامل لقليلات سكريد

عبر الطبقة المضاعفة الشحمية بالخلية، بطريقة المصاوغة الإنزيمية المقرونة ـ المفروقة المضاهئة لتلك الموصوفة سابقاً في مصاوغة الرودوبسين المقرونة ـ المفروقة. والدليل على أن حمض الريتينويك يشترك في تخليق البروتينات السكرية هو اعتماد التخليق على ذلك تماماً، لأن عوز الڤيتامين A يؤدي إلى تراكم متوسطات غير سوية من سبيل تخليق البروتينات السكرية ذات طبيعة شحمية ـ قليلة السكريد منخفضة الوزن الجزيئي (الفصل 56).

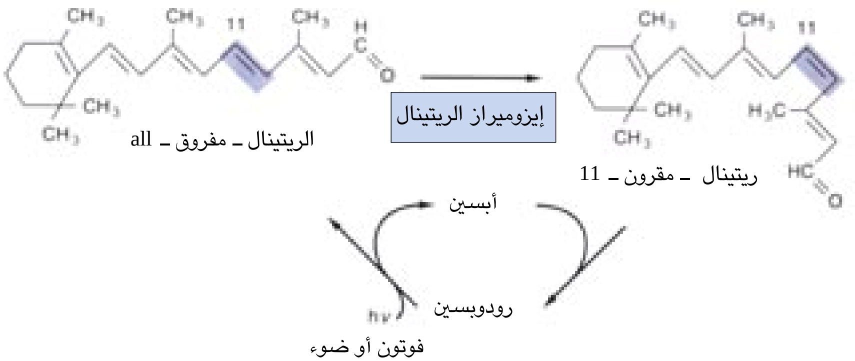
يسبب نقص الڤيتامين A أعراض عوز مميزة:

يسبب عوز الڤيتامين A أعراضاً ناجمة عن سوء وظيفة الآليات الخلوية المتعددة التي تشارك فيها الريتينويدات. وإحدى أولى الإشارات هي سوء الرؤية في الظلام، الذي يحدث عندما تستنفذ المخازن الكبدية تقريباً. ويؤدي النفاد الإضافي إلى تَقرُّن الأنسجة الظهارية بالعين والرئتين والسبيل المعدي المعوي والسبيل البولي التناسلي، المقترن مع نقص في الإفراز المخاطي. ويؤدي التردي في أنسجة العين ـ جفاف الملتحمة (Xerophthalmia) ـ إلى العمى. ويبدو أن الڤيتامين A ضروري أيضاً لمقاومة العدوى بسبب وظيفته في الاستجابة المناعية. ويحدث عوز الڤيتامين A بشكل رئيسي عند الأفراد الذين يعتمدون على أقوات أساسية فقيرة مع نقصٍ في الخضراوات التي يمكن أن تقدم بطريقة أخرى طليعة الڤيتامين β- كاروتين. ويكون الكحوليون معرضين بشكل خاص لعوز الڤيتامين A ، لكنهم أيضاً أكثر عرضة لفرط الڤيتامين عند محاولة التعويض عنه.

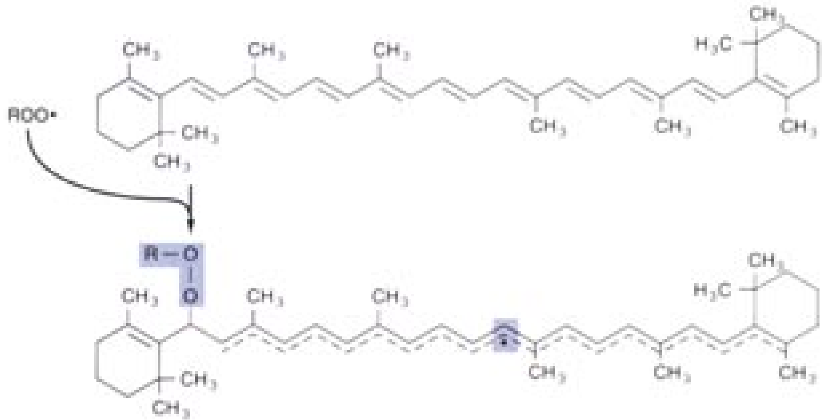
تملك كل من الريتينويدات والكاروتينويدات فعالية مضادة للسرطان:

ينشأ العديد من السرطانات عند الإنسان في الأنسجة الظهارية التي تعتمد على الريتينويدات للتمايز الخلوي السوي. وبينت بعض الدراسات الوبائية وجود علاقة عكسية بين محتوى الغذاء من الڤيتامين A وخطر الإصابة بالسرطان؛ وأظهرت التجارب أن إعطاء الريتينويد ينقص تأثير بعد المسرطنات.

إن β–كاروتين مضاد للأكسدة، وقد يلعب دوراً في تصيد الجذور الحرة في الأنسجة عند الضغوط الجزئية المنخفضة من الاكسجين. وتعود قدرة β–كاروتين على العمل كمضاد تأكسد إلى تثبيت الجذور الحرة البيروكسيدية العضوية ضمن بنية ألكيله المقترن (الشكل 53-5). ونظراً لأن β ـ كاروتين فعال عند تراكيز الاكسجين المنخفضة، فهو يتمم خصائص الڤيتامين E المضادة للتأكسد، الذي يكون فعالاً عند التراكيز الأعلى من الأكسجين (الفصل 16). وقد تكون الخصائص المضادة للتأكسد لهذين الڤيتامينين الذوابين في الشحم مسؤولة بشكل معتبر عن فعاليتهما المحتملة المضادة للسرطان. وتترافق التراكيز المنخفضة من β ـ كاروتين و β– توكوفيرول في المصل مع نشوء الساد الشيخوخي. ويعد LDL الحامل الرئيسي لـ β ـ كاروتين.



الشكل 53-4 : يرتبط الريتينال ـ مقرون ـ 11، المتشكل من الريتينال ـ مفروق ـ all، مع الأبسين فيتشكل الرودوبسين في الخلايا العصوية بالعين. وعندما يمتص الرودوبسين فوتونات ضوئية فإن لونه يَبْيَّضْ (يزول)، ويولد الأبسين و الريتينال ـ مفروق ـ all. ويلزم الريتينال للمحافظة على دورة التفاعلات هذه. ويشير مصطلح «أيزوميراز الريتينال» إلى سلسلة من التفاعلات يكون فيها إستر الريتينل مركباً متوسطاً.



الشكل 5-53 : تشكل جذر ذي كربون مركزي ثابت رنينياً من جذر البيروكسيل (ROO) و β– كاروتين.

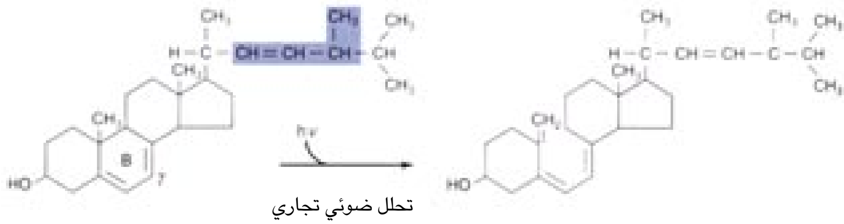
الفيتامين D :

الفيتامين D هو طليعة هرمون ستيرويدي. وهو ممثل بالستيرويدات التي توجد في الحيوانات والنباتات والخميرة.والتي تبعث، عن طريق تبدلات أيضية متعددة في الجسم، على تشكيل هرمون يعرف بالكالسيتريول (Calcitriol)، والذي يلعب دوراً أساسياً في أيض الكالسيوم والفسفات (الفصل 47).

يتولد الفيتامين D من الطليعة الفيتامينية الكوليسترول منزوع الهيدروجين بفعل ضوء الشمس:

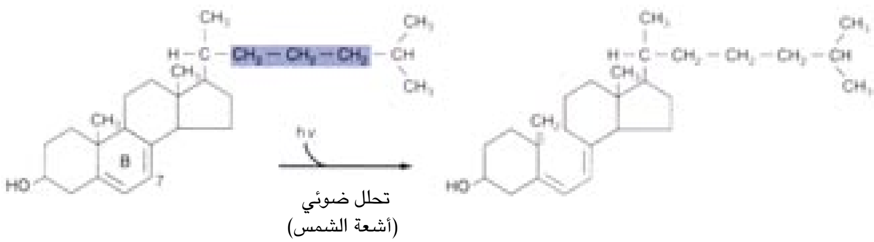
يوجد الإرجوستيرول (Ergosterol) في النباتات، أما 7– كوليسترول منزوع الهيدروجين ففي الحيوانات. ويختلف الإرجوستيرول عن 7–كوليسترول منزوع الهيدروجين فقط في سلسلته الجانبية، التي تكون لا مشبعة وتحوي زمرة ميثيل إضافية (الشكل 6-53). ويشطر التشعيع فوق البنفسجي الحلقة B في كل من

المركبين. ويمكن صنع الإرجوكالسيفيرول (Ergocalciferol) (الڤيتامين D_2) تجارياً من النباتات وفقاً لهذه الطريقة، في حين يتشكل الكولي كالسيفيرول (Cholecalciferol) (الڤيتامين D_3) عند الحيوانات من 7–كوليسترول منزوع الهيدروجين (طليعة في التخليق الحيوي للكولسترول) في الجلد المعرض للتشعيع. ويكون لكلا الڤيتامينين D_2 و D_3 القدرة ذاتها.



إرجوستيرول
(في النباتات، كالخميرة)

إرجوكالسيفيرول (الڤيتامين D_2)



7– كوليسترول منزوع الهيدروجين
(في الحيوانات)

كوليكالسيفيرول (الڤيتامين D_2)

الشكل 6-53 : الإرجوستيرول و 7– كوليسترول منزوع الهيدروجين وتحولهما بوساطة التحلل الضوئي إلى الإرجوكالسيفيرول والكوليكالسيفيرول على الترتيب.

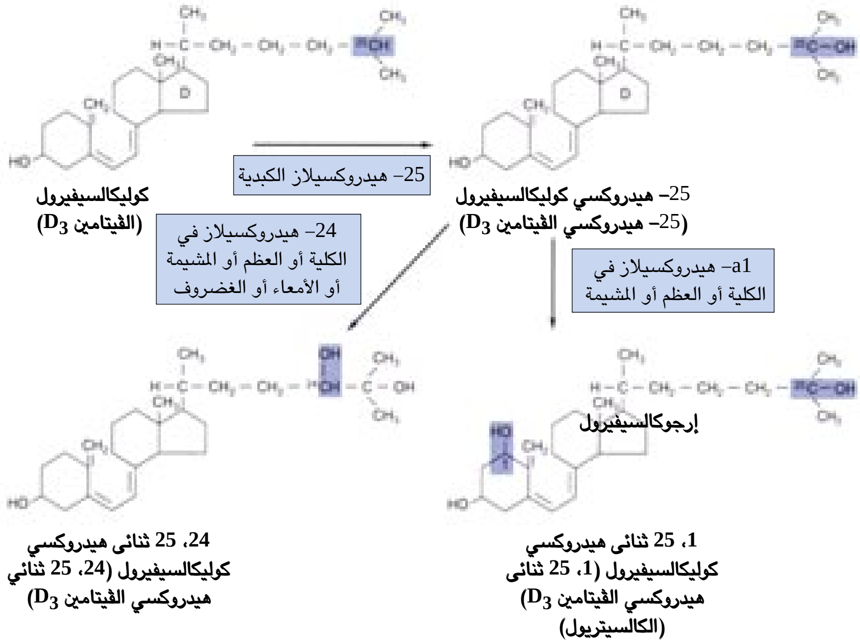
يسهم كل من الكبد والكلية في تخليق الكالسيتريول:

يدور كل من الڤيتامين D_3، المتشكل من 7– كوليسترول منزوع الهيدروجين بفعل ضوء الشمس، والڤيتامين D_3 الغذائي (أو D_2) بعد امتصاصه من المذيلات في الأمعاء ثم نقله في الأوعية اللمفية، يدوران في الدم مرتبطين بجلوبلين نوعي هو البروتين الرابط للڤيتامين D. ويُقبط الڤيتامين D_3 من قبل الكبد، حيث يهدرل في الموضع 25 بوساطة 25– هيدروكسيلاز الڤيتامين D3، وهو إنزيم بالشبكة الهيولية الباطنية يعد محدداً للمعدل في السبيل (الشكل 53-7). إن الشكل الرئيسي للڤيتامين D في الدوران والشكل الاختزاني الرئيسي له في الكبد هو 25– هيدروكسي الڤيتامين D_3، على الرغم من أن التقارير قد أشارت إلى كل من النسيج الشحمي والعضلات الهيكلية على أنها المقرات الرئيسية للاختزان. ويخضع جزء معتبر من 25– هيدروكسي الڤيتامين D_3 للدوران الكبدي المعوي، ويمكن أن تؤدي الاضطرابات في هذه العملية إلى عوز الڤيتامين D.

يهدرل 25– هيدروكسي الڤيتامين D_3 من جديد في النبيبات الكلوية والعظم والمشيمة في الموضع 1 بوساطة 1– هيدروكسيلاز 25– هيدروكسي الڤيتامين D_3، وهو إنزيم متقدري. ويكون الناتج α1، 25 ثنائي هيدروكسي الڤيتامين D_3 (الكالسيتريول)، وهو ناتج الأيض الأكثر فعالية للڤيتامين D. ويُنظَّم إنتاجه بتركيزه بحد ذاته وبهرمون الدريقات وبفسفات المصل.

يمكن أن يهدرل 25– هيدروكسي الڤيتامين D_3 أيضاً في الموضع 24 بإنزيم متقدري يوجد في النبيبات الكلوية والغضروف والأمعاء والمشيمة. ويتعلق مستوى الناتج 24، 25 ثنائي هيدروكسي الڤيتامين D_3 عكساً مع مستوى 1، 25 ثنائي هيدروكسي الڤيتامين D_3 في المصل، الذي هو غير فعال بيولوجياً.

وللاطلاع على تفاصيل أكثر عن تنظيم ودور الكالسيترول في أيض الكلسيوم والفسفات (انظر الفصل 47). وقد تراكمت الدلائل على أن الڤيتامين D، وكذلك الڤيتامين A، ينجز وظائفه عن طريق تنشيط جينات نوعية. ويسهم الڤيتامين D أيضاً في تمايز الخلية وفي الوظيفة المناعية.



الشكل 53-7 : يمكن للكوليكالسيفيرول أن يُهَدرَل عند الموضع C_{25} بوساطة إنزيم كبدي. ويتأيض 25–هيدروكسي كوليكلسيفيرول إضافياً إلى $\alpha1$ ، 25 ثنائي هيدروكسي كوليكالسيفيرول أو إلى 24، 25 ثنائي هيدروكسي كوليكالسيفيرول.

يسبب عوز الڤيتامين D الرخد وتلين العظام:

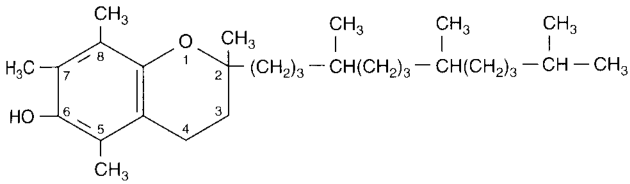
يحدث الرخد (الكُساح: Rickets) عند الأطفال الناشئين وتلين العظام (Osteomalacia)عند البالغين الذين لا يتعرَّضون لضوء الشمس أو الذين لا يتلقون كميات كافية من الڤيتامين D في الغذاء. وهو ناجم عن تلين العظام الناجم عن نقص الكالسيوم والفسفات. ويكون كل من زيت السمك ومح البيض والكبد مصادر جيدة للڤيتامين. إن تعرض الفرد إلى ضوء الشمس، الذي يتحكم به الموقع الجغرافي بالنسبة لخط العرض والفصل (صيف، شتاء...) وعوامل أخرى، يؤثر في الاعتماد النسبي على المصادر الغذائية لتوفير الاحتياجات من الڤيتامين D. ويؤدي المدخول

المفرط من الڤيتامين إلى فرط الڤيتامين الذي يتصف بتراكيز مرتفعة من الكالسيوم في الدم وتكلس الأنسجة الرخوة.

الڤيتامين E (التوكوفيرول):

يوجد العديد من التوكوفيرولات في الطبيعة. وهي جميعها 6- هيدروكسي كرومانات متبدلة الإيزوبرينويد (توكولات Tocols) (الشكل 53-8).

إن D α – توكوفيرول هو الأكثر توزعاً في الطبيعة وله الفعالية البيولوجية الأكبر. وقد أشير إلى التوكوفيرولات الأخرى ذات الأهمية الغذائية في (الجدول 53-1).



الشكل 53-8 : α – توكوفيرول.

التوكوفيرول	المتبدلات
ألفا α	5، 7 ، 8 – ثلاثي ميثيل التوكول
بيتا β	5 ، 8 – ثنائي ميثيل التوكول
جاما γ	7 ، 8 – ثنائى ميثيل التوكول
دلتا δ	8 – ميثيل التوكول

الجدول 53-1 : التوكوفيرولات الموجودة في الطبيعة ذات الأهمية الغذائية.

يعزز امتصاص الدهن الفعال امتصاص الڤيتامين E :

يؤدي اضطراب امتصاص الدهن إلى عوز الڤيتامين E لأن التوكوفيرول يوجد ذائباً في الدهن الغذائي ويتم تحرره وامتصاصه في أثناء هضم الدهن. وعدا ذلك، يتم نقله في الدم عن طريق البروتينات الشحمية ـ أولاً، بالانجبال في الدقائق الكيلوسية، التي توزع الڤيتامين إلى الأنسجة التي تحوي ليباز البروتين الشحمي ومن ثم إلى الكبد في بقايا الدقائق الكيلوسية؛ وثانياً، بتصديره من الكبد في البروتينات الشحمية وضيعة الكثافة ويختزن في النسيج الشحمي. بذلك يمكن أن يوجد عوز الڤيتامين E في حالات مترافقة مع خلل بوظيفة العمليات سابقة الذكر، كالإسهال الدهني المزمن، وعوز البروتين الشحمي β في الدم، وأمراض الركودة الصفراوية الكبدية والتليف الكيسي، وعند المرضى الذين خضعوا لعملية قطع في الأمعاء.

الڤيتامين E هو أكثر مضاد تأكسد طبيعي أهميةً:

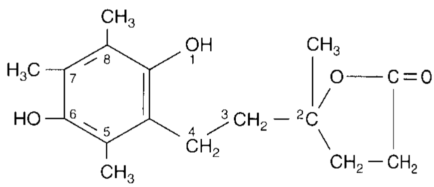
يبدو أن الڤيتامين E يشكل خط الدفاع الأول ضد الأكسدة الفائقة للأحماض الدهنية متعددة اللاإشباع الموجودة في الشحميات الفسفورية للأغشية الخلوية ودون الخلوية (الفصل 16). الجدير ذكره هنا أن الشحميات الفسفورية لكل من المتقدرات والشبكة الهيولية الباطنية والأغشية البلازمية تمتلك ألفة لـ α ـ توكوفيرول، ويبدو أن الڤيتامين يتركز في هذه المواضع. وتعمل التوكوفيرولات كمضادات تأكسد، فهي تكسر التفاعلات المتسلسلة للجذور الحرة نتيجة لقدرتها على نقل هيدروجين الفينوليك إلى جذر البيروكسيل الحر للحمض الدهني متعدد اللاإشباع المتعرض للأكسدة الفائقة (الشكل 53-9؛ الفصل 16). ويمكن لجذر الفينوكسي الحر المتشكل أن يتفاعل مع الڤيتامين C لإعادة توليد التوكوفيرول (الشكل 53-12)، أو أن يتفاعل مع جذر بيروكسيل حر آخر بحيث يؤكسد كلا من حلقة الكرومان والسلسلة الجانبية إلى ناتج جذري غير حُرْ مُبين في (الشكل 53-10). ويقترن ناتج الأكسدة هذا مع حمض الجلوكورونيك عن طريق زمرة

الهيدروكسيل –2، ويفرغ في الصفراء. وإذا هو تفاعل وفقاً لهذا الأسلوب، فإن التوكوفيرول لا يعود لدورة عمل جديدة بعد إنجازه لوظيفته، بل يجب استبداله بالكامل لمتابعة دوره البيولوجي في الخلية. ويكون فعل التوكوفيرول المضاد للتأكسد فعالاً عند تراكيز الأكسجين المرتفعة، لذلك فإنه ليس غريباً ميله لأن يتركز في تلك البنى الشحمية التي تتعرض لأعلى ضغوط جزئية من O_2 كغشاء الكرية الحمراء، وأغشية الشجرة التنفسية وشبكية العين.

$$ROO\bullet + TocOH \longrightarrow ROOH + TocO\bullet$$

$$ROO\bullet + TocO\bullet \longrightarrow ROOH + \text{ناتج جذري غير حر}$$

الشكل 53-9 : فعالية التوكوفيرولات (TocOH) المضادة للتأكسد والمحطمة للسلسلة نحو جذور البيروكسيل (ROO).



الشكل 53-10 : ناتج أكسدة α – توكوفيرول. تسمح الأرقام بالربط بين الذرات هذه وتلك في المركب الأصلي.

يعمل كل من الڤيتامين E والسيلينيوم بشكل متآزر:

إن بيروكسيداز الجلوتاثيون، الذي يشكل السيلينيوم فيه مكوناً متمماً (الفصل 22)، يمثل خط الدفاع الثاني ضد الهيدروبيروكسيدات قبل أن تستطيع الإضرار بالأغشية والمكونات الخلوية الأخرى (الشكل 53-12). وبهذا الشكل يدعم التوكوفيرول والسيلينيوم كل منهما الآخر في أفعالهما ضد الأكسدة الفائقة للشحوم. إضافة إلى ذلك يلزم السيلينيوم لكي يقوم البنكرياس بشكل سوي بوظيفته الضرورية لهضم الشحميات وامتصاصها، بما في ذلك الڤيتامين E. وبالمقابل، يخفض الڤيتامين E الاحتياجات من السيلينيوم بمنع فقدان السيلينيوم من الجسم أو المحافظة عليه بالشكل النشيط.

قد يؤدي عوز الڤيتامين E إلى فقر الدم عند حديثي الولادة:

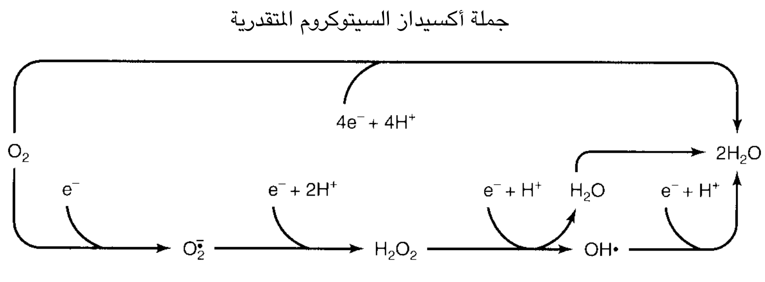
توجد حاجة محتملة لتزويد غذاء النساء الحوامل والمرضعات والولدان بالتوكوفيرول، حيث يمكن أن ينشأ لديهم فقر الدم نتيجة لعدم كفاية الڤيتامين E. ويمكن أن يكون فقر الدم ناجماً عن نقص بإنتاج الهيموجلوبين وقصر فترة حياة الكريات الحمراء.

تتزايد الحاجة للڤيتامين E مع المدخول الكبير من الدهن متعدد اللا إشباع. وقد يسبب مدخول الزيوت المعدنية، أو التعرض إلى الأكسجين (كما في خيمة الأكسجين) أو الأمراض المؤدية إلى عدم كفاءة امتصاص الشحميات، عوزاً في الڤيتامين يؤدي إلى اضطراب عصبي.

يتخرب الڤيتامين E بالطهي التجاري ومعالجة الطعام بما في ذلك التجميد العميق. وتعد حبوب القمح وزيوت بذور كل من عباد الشمس والزعفران وزيت الذرة وزيت فول الصويا مصادر جيدة للڤيتامين. وعلى الرغم من أن زيوت أكباد السمك مصادر غنية للڤيتامين A و D، إلا أنها تملك كميات غير مهمة من الڤيتامين E.

قد تستهل أنواع الأكسجين التفاعلي العملية المرضية:

الجذر الحر هو ذرة أو جزيء يملك واحداً أو أكثر من الإلكترونات غير المتزاوجة. وهذا يسبب ميله إلى اكتساب إلكترون من مواد أخرى مما يجعله متفاعلاً بشكل كبير. إلاَّ أنه ليست كل أنواع الأكسجين التفاعلية جذوراً حرة، كالأكسجين المفرد و H_2O_2. وعندما يرجع الأكسجين إلى ماء بوساطة أكسيداز السيتوكروم، فإنه يكتسب أربعة إلكترونات (الشكل 53-11). من ناحية ثانية يمكن كسب الإلكترونات كل على حدة بالإرجاع وحيد التكافؤ، الذي يشكل 1-5٪ من الاستهلاك الكلي للاكسجين. وتكون الجزيئات المستقلة في الإرجاع وحيد التكافؤ ذات تفاعلية بشكل كبير ومؤذية جداً للأنسجة. وهي الجذر فوق الأكسيد الحر (Superoxide) وبيروكسيد الهيدروجين وجذر الهيدروكسيل الحر. ويكون الأخير ساماً للغاية لكنه ذو عمر قصير فهو لذلك يعمل قرب مقرات توليده عن طريق تفاعلات فنتون (Fenton) المُحفزة بالـ Fe^{2+} وهابر ـ ڤيس (Haber-Weiss) (الجدول 60-4).



الشكل 53-11 : إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلي في أثناء إرجاع (اختزال) الأكسجين إلى ماء. يحتاج إرجاع مول واحد من O_2 عن طريق جملة أكسيداز السيتوكروم في السلسلة التنفسية إلى -4e. إلا أن تفاعلات معينة تسمح لهذا الإرجاع بأن يحدث بوساطة سلسلة من التفاعلات أحادية التكافؤ يحتاج كل منها إلى -e واحد. وتتولد أنواع الأكسجين التفاعلي في هذا السبيل (• جذر حر).

أما المصادر الأخرى للأنواع التفاعلية فهي أكسيداز الزانثين، الذي يولد فوق الأكسيد (مثلما يحدث خلال إعادة تروية المناطق المتأذية في الأعضاء الناقصة التروية) والأكسيجيناز الحلقي والأكسيجيناز الشحمي (الفصل 25)، التي تنتج جذور الهيدروكسيل والبيروكسيل. وتنتج العدلات المنبهة فوق الأكسيد والتي هي إحدى آليات القضاء على الجراثيم (الفصل 60). وقد ينتج فوق الأكسيد أيضاً خلال أيض الجزيئات غير الحية بوساطة السيتوكروم P450. ولأن هذه الجزيئات تكون تفاعلية كثيراً، فإنها تعمل في مواقع قريبة جداً من حيث يتم توليدها. لذلك فإن معظم البنى الخلوية تكون حساسة، بما في ذلك الأغشية والبروتينات البنيوية والإنزيمات والأحماض النووية، الأمر الذي يمكن أن يقود إلى الطفرة وموت الخلية.

يمكن للغذيات المضادة للتأكسد أن تمنع المرض:

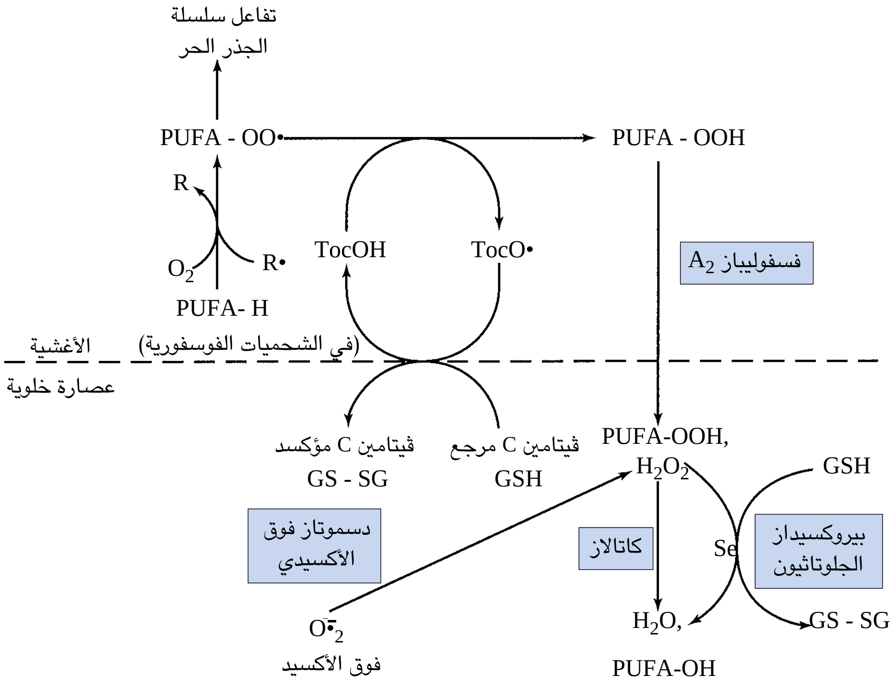
لقد نوقشت الآليات المستقلة للدفاع عن الأنسجة بمنع ابتداء التفاعلات المتسلسلة للجذور الحرة وانهائها، أي دسموتاز فوق الأكسيد (Superoxide Dismutase) (الفصل 13) ومضادات تأكسد الشحميات (الفصل 16) وبيروكسيداز الجلوتاثيون والسيلينيوم (انظر سابقاً) والڤيتامين C (الفصل 52) والڤيتامين A و β – كاروتين (انظر فيما سبق) والڤيتامين E (انظر سابقاً). ويعطي (الجدول 53-2) ملخصاً عن الأنواع التفاعلية الأساسية والآليات المتاحة لتدميرها. كما يبين (الشكل 53-12) تآثر بعض الآليات المضادة للتأكسد. ويتوافر المزيد من الأدلة على تورط الجذور الحرة والجزيئات التفاعلية الأخرى في العمليات المرضية. ويأتي الدليل الرئيسي من الدراسات الوبائية التي أظهرت وجود علاقة إحصائية بين حدوث المرض والمستويات المنخفضة من الغذيات المضادة للتأكسد في الدم أو في الغذاء. وهذه هي الحال فيما يتعلق بالسرطان والسيلينيوم والڤيتامينين A و β– كاروتين والڤيتامين C والڤيتامين E. وتوجد أيضاً علاقة عكسية بين حدوث الداء القلبي الوعائي وحالة الڤيتامينين E وC. وتتوافق هذه الموجودات مع الدراسات الأخرى التي أظهرت أن LDL المؤكسد يُقبط من قبل البلاعم والخلايا الرغوية (Foam Cells) بشكل أسرع من قبطها لـ LDL السوي، وأن للدواء المضاد للتأكسد

البروبوكول (Probucol) تأثيراً مفيداً في هذه العمليات. وتتوافر بعض الأدلة على أن الڤيتامين A الموضعي يمكن أن يحمي الجلدَ من التأثيرات المؤذية للأشعة فوق البنفسجية. وفي الوقت الراهن، لم يتم التوصل بعد إلى حجة من أجل التزويد العام بأي من مضادات التأكسد المذكورة أعلاه أو بكلها، ويجب أن تنتظر القرارات نتائج التجارب والجهود المبذولة طويلة الأمد التي تتقدم الآن، إلا أنه ينصح بزيادة استهلاك الحبوب والمكسرات والفواكه والخضار ـ التي تعد جميعها مصادر جيدة لمضادات التأكسد.

	الأنواع التفاعلية	**مضادات التأكسد**
$^1O_2$	الأكسجين المفرد [1]	الڤيتامين A و β كاروتين والڤيتامين E
O_2	جذر فوق الأكسيد الحر	دسموتاز فوق الأكسيد، الڤيتامين E، β– كاروتين
$OH^{\cdot}$	جذر الهيدروكسيل الحر	
$RO^{\cdot}$	جذر ألكوكسيل الحر	
$ROO^{\cdot}$	جذر البيروكسيل الحر	الڤيتامين E، الڤيتامين C
H_2O_2	بيروكسيد الهيدروجين	الكاتالاز، بيروكسيداز الجلوتاثيون
LOOH	فوق اكسيد الشحم	بيروكسيداز الجلوتاثيون

الجدول 53-2 : أنواع الأكسجين التفاعلي ومضادات فعلها المؤكسد.

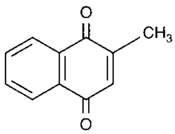
1 – تكون الإلكترونات في جزيء O_2 في مستوى طاقي مرتفع.



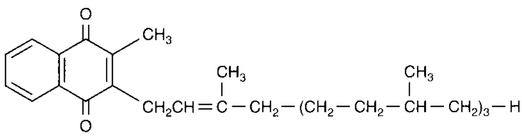
الشكل 12-53 : التآزر بين الجمل المضادة للتأكسد التي تعمل في الطور الشحمي (الأغشية) من الخلية وفي الطور المائي (العصارة الخلوية). (R : جذر حر؛ .PUFA-OO: جذر البيروكسيل الحر للحمض الدهني متعدد اللاإشباع في الشحميات الفسفورية الغشائية؛ PUFA-OOH: هيدروبيروكسي الحمض الدهني متعدد اللاإشباع في الشحميات الفسفورية الغشائية والذي يتحرر إلى العصارة الخلوية بشكل هيدربيروكسي الحمض الدهني الحر بتأثير الفسفوليباز A_2 ; PUF A-OH: هيدروكسي الحمض الدهني متعدد اللاإشباع؛ TocOH: الڤيتامين E (α– توكوفيرول)؛ .TocO: الجذر الحر لـ α – توكوفيرول؛ Se: سيلينيوم؛ GSH: جلوتاثيون مرجع؛ GS-SG: جلوتاثيون مؤكسد، والذي يعود لحالته المرجعة بعد تفاعله مع NADPH بتحفيز مختزلة الجلوتاثيون؛ PUFA-H: حمض دهني متعدد اللاإشباع).

الڤيتامين K:

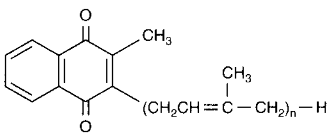
إن الڤيتامينات التي تنتمي إلى المجموعة K هي نابثوكينونات متبدلة متعددة الإيزوبرينويد (الشكل 53-13). ويعد الميناديون (K_3) المركب الأصلي لسلسلة الڤيتامينات K، وهو لا يوجد في الطبيعة، لكن إذا أعطي فإنه يؤلكل في الأحياء (In vivo) إلى أحد الميناكينونات (K_2). ويكون الفيللوكينون (K_1) هو الشكل الرئيسي للفيتامين K الموجود في النباتات. أما الميناكينون –7 فهو واحد من سلسلة الأشكال اللامشبعة متعددة البرينويد للڤيتامين K الذي يوجد في الأنسجة الحيوانية ويتم تخليقه في الجراثيم المعوية.



ميناديون (الڤيتامين K_3)



فيللوكوينون (الڤيتامين K_1، فيتوناديون، ميفيتون)



ميناكوينون -n (الڤيتامين K_2 ؛ n=6 أو 7 أو 9)

الشكل 53-13 : الڤيتامينات K. الميناديون هو 2– ميثيل –1، 4– نابثوكينون. وتكون ڤيتامينات K الأخرى متبدلة وحدات الإيزوبرينويد المتعددة.

يتطلب امتصاص الفيتامين K امتصاصاً سوياً للدهن:

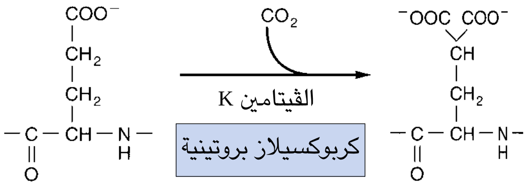
إن سوء امتصاص الدهون هو السبب الأكثر شيوعاً لعوز الڤيتامين K. وتمتص مشتقات الڤيتامين K الموجودة في الطبيعة فقط في حال وجود الأملاح الصفراوية، وذلك على غرار الشحميات الأخرى، وتتوزع في مجرى الدم عن طريق اللمف، في الدقائق الكيلوسية. يمتص الميناديون، كونه ذواباً في الماء، حتى في غياب الأملاح الصفراوية، حيث يمر مباشرة إلى الوريد البابي الكبدي. وعلى الرغم من أن الڤيتامين K يتراكم في الكبد بشكل رئيسي، إلا أن تركيزه في الكبد ينخفض بسرعة ويكون اختزانه محدوداً.

يلزم الفيتامين K للتخليق الحيوي لعوامل التجلط في الدم:

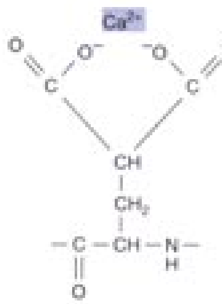
تبين أن الڤيتامين K يسهم في المحافظة على مستويات سوية من عوامل تجلط الدم II (البروثرمبين) و VIIو IX و X؛ التي يتم تخليقها جميعاً في الكبد بشكل رئيسي بشكل بروتينات طليعية غير نشيطة (الفصل 59).

يعمل الفيتامين K كتميم عامل للكربوكسيلاز التي تشكل γ- كربوكسي جلوتامات في البروتينات الطليعية:

يتضمن توليد عوامل التجلط النشيطة بيولوجياً تعديل ثمالات الجلوتامات (Glu) في البروتينات الطليعية بعد الترجمة إلى ثمالات γ- كربوكسي جلوتامات (Gla) بوساطة كربوكسيلاز بروتيني نوعي معتمدة على الڤيتامين K (الشكل 53-14). ويحوي البروثرمبين (العامل II) عشراً من ثمالات Gla، التي تسمح باستخلاب الكلسيوم في التآثر النوعي بروتين – كالسيوم – شحم فسفوري الذي هو أساسي لدورها البيولوجي (الشكل 53-15). وقد تم تحديد بروتينات أخرى تحوي ثمالات Gla معتمدة على الڤيتامين K في أنسجة عديدة.



الشكل 53-14 : كرسلة ثمالة الجلوتامات بتحفيز كربوكسيلاز معتمد على الڤيتامين K.



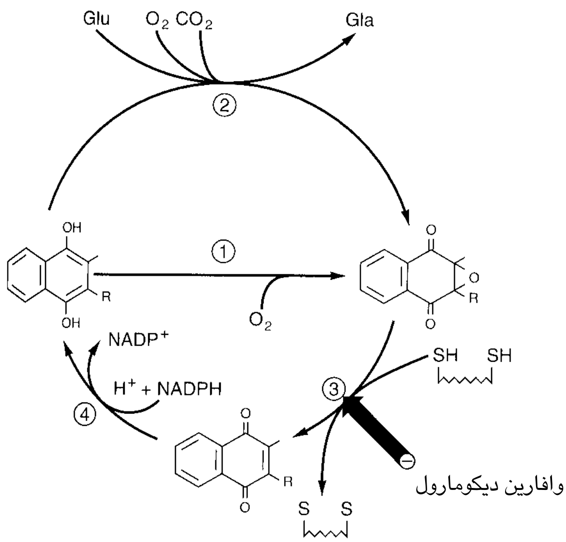
الشكل 53-15 : استخلاب أيون الكالسيوم بوساطة ثمالة γ– كربوكسي جلوتاميل في بروتينات عوامل التجلط.

تسمح دورة الڤيتامين K بإعادة توليد الڤيتامين K المرجع:

يجري تفاعل الكربوكسيلاز المعتمد على الڤيتامين K في الشبكة الهيولية الباطنية للعديد من الأنسجة؛ ويتطلب الأكسجين الجزيئي وثاني أكسيد الكربون (وليس HCO_3^-) والهيدروكينون (Hydroquinone) (المرجع) وهو أحد أشكال الڤيتامين K. وتوجد دورة الڤيتامين K في الشبكة الهيولية الباطنية للكبد (الشكل 53-16)، التي يجري فيها تحول ناتج تفاعل ضم الكربوكسيل وهو 2، 3 – إيبوكسيد بوساطة مختزلة 2، 3 – إيبوكسيد إلى شكل الكينون من الڤيتامين K، باستخدام

مرجع ثنائي الثيول لم يحدد حتى الآن. وهذا التفاعل حساس للتثبيط بـ 4 – هيدروكسي الديكومارين (الديكومارول)، وهو نمط من مضادات التخثر، مثله مثل الوارفرين (Warfarin) (الشكل 53-17)، المستخدم كسم للجرذان أيضاً. ويقوم الإرجاع التالي للشكل الكينوني إلى الهيدروكينون بالـ NADH بإتمام دورة الڤيتامين K، لإعادة توليد الشكل النشيط من الڤيتامين.

إن الاستخدام العلاجي المهم للڤيتامين K هو كترياق عند الانسمام بأدوية من نمط الديكومارول. حيث أن الأشكال الكينونية من الڤيتامين K تتجاوز ردكتاز الإيبوكسيد المثبطة وتوفر مصدراً كامناً للشكل النشيط من الڤيتامين K، أي الهيدروكينون. وقد أشارت الدلائل الأخيرة إلى دور الڤيتامين K في تخليق البروتينات العظمية، كالأستيوكالسين (Osteocalcin)، الذي يحوي أيضاً ثمالات Gla لربط Ca^{2+}.



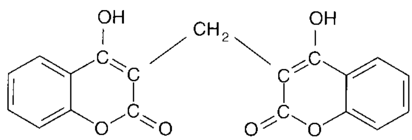
الشكل 53-16 : دورة الڤيتامين K في الكبد. تمت الإشارة إلى موضع فعل مضادات التخثر من نمط الديكومارول. حيث أن تفاصيل بعض التفاعلات ما تزال غير مؤكدة. (1: الأكسجيناز الأحادي؛ 2: الكربوكسيلاز البروتيني؛ 3: ردكتاز 2، 3– ايبوكسيد؛ 4: ردكتاز).

يسبب عوز الڤيتامين K الداء النزفي عند الولدان:

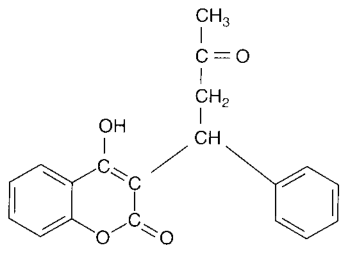
إن الڤيتامين K واسع الانتشار في الأنسجة النباتية والحيوانية المستخدمة كطعام؛ ويَضْمن إنتاج الڤيتامين من قبل النبيت الدقيق في الأمعاء بشكل فعلي عدم حدوث عوز غذائي عند البالغين. إلا أن الولدان أكثر عرضة للعوز، لأن المشيمة لا تمرر الڤيتامين إلى الجنين بشكل فعال، وتكون الأمعاء عقيمة بعد الولادة مباشرة. ويتناقص التركيز البلازمي عند الأطفال الأسوياء مباشرة بعد الولادة، لكنه يستعاد بعد امتصاص الطعام. وإذا انخفض مستوى البروثرمبين بشكل كبير، يمكن أن تظهر المتلازمة النزفية. وتعاني الماشية التي تطعم برسيماً معطوباً (تالفاً) حلو المذاق من آفات نزفية ناجمة عن تشكيل ووجود الديكومارول في هذه الظروف.

يمكن أن ينجم عوز الڤيتامين K عن سوء امتصاص الدهون، الذي قد يكون مترافقاً مع خلل في وظيفة البنكرياس، أو الداء الصفراوي، أو ضمور المخاطية المعوية، أو أي سبب للإسهال الدهني. بالإضافة إلى ذلك، يمكن لتعقيم المعي الغليظ بالصادات أن يؤدي للعوز عندما يكون المدخول الغذائي محدوداً.

(أ)



(ب)



الشكل 17-53 : ضواد الڤيتامين K المستخدمة كمضادات للتخثر.
«أ»: ديكومارول. «ب» : وارفارين.

الخلاصة:

1- تتمتع الڤيتامينات الذوابة في الشحم بملامح مشتركة لكونها جزيئات كارهة للماء لا قطبية، وأيضاً كونها مشتقات الإيزوبرين. ويتطلب امتصاصها بفعالية أن يكون امتصاص الدهون سوياً. وإذا كانت هذه الآلية معيبة، فإنه غالباً ما تحدث أعراض العوز.

2 – لا يكون الڤيتامين A (الريتينول) ممثلاً بهذا الشكل فقط في الغذاء بل أيضاً بشكل الطليعة الڤيتامينية (β- كاروتين) في النباتات. ويعتقد أن كلاً من الريتينول وحمض الريتينويك يعملان بالتحكم بالتعبير الجيني، في حين يستعمل الريتينال في الرؤية، وله دور في تخليق البروتينات السكرية.

3 – الڤيتامين D هو طليعة هرمون ستيرويدي تتحقق فعاليته بوساطة مشتقه الهرموني، الكالسيتريول. وهو يستعمل في تنظيم أيض الكالسيوم والفسفات، ويؤدي حذفه من الغذاء إلى الرخد وتلين العظام.

4 – الڤيتامين E هو أكثر مضادات التأكسد أهمية في الجسم، ويعمل في الطور الشحمي للأغشية خلال الخلية. وهو يحمي من تأثيرات الجذور السامة كجذر البيروكسيل الحر، بشكل رئيسي كمخرب للتفاعلات المتسلسلة للجذور الحرة. وتزداد الحاجة للڤيتامين E مع زيادة مدخول الدهون متعددة اللا إشباع.

5 – يلزم الڤيتامين K لتخليق عدة عوامل تجلط في الدم (مثل II و VIIو IXوX) ويقوم بوظيفته كتميم عامل للكربوكسيلاز الذي يعمل على ثمالات الجلوتامات في البروتينات الطليعية لعوامل التجلط ليمكنها من استخلاب الكالسيوم. ويعد قطع دورة إعادة توليد الڤيتامين K بتأثير مركبات من نمط الديكومارول الأساس لخصائصها المضادة للتخثر.

*** References:**

Adams JS et al: Vitamin D synthesis and metabolism after ultraviolet irradiation of normal and vitamin D-deficient subjects. *N Engl J Med* 1982;306:722.

Duthie GG et al: Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *Nutr Res Rev* 1989;2:51.

Farber JL et al: Biology of disease: Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. *Lab Invest* 1990; 62:670.

Halliwell B, Chirico S: Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993;57:715S.

Inhibition of free radical chain oxidation by α-tocopherol and other plasma antioxidants. *Nutr Rev* 1988;46:206.

Jamieson D: Oxygen toxicity and reactive oxygen metabolites in mammals. *Free Radical Biol Med* 1989;7:87.

Krinsky Nl: Actions of carotenoids in biological systems. *Annu Rev Nutr* 1993;13:561.

Leo MA, Lieber CS: Hypervitaminosis A: A liver lover's lament. *Hepatology* 1988;8:412.

Olson RE et al (editors): *Present Knowledge in Nutrition*, 5th ed, The Nutrition Foundation, 1984.

Passmore R, Eastwood MA: *Human Nutrition and Dietetics*. Churchill Livingstone, 1986.

Reilly PM et al: Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygeo metabolites. *Am J Surg* 1991; 161 :488.

Season, latitude, and ability of sunlight to promote synthesis of vitamin D_3 in skin. *Nutr Rev* 1989;47:252.

Slater TF, Block G (editors): Antioxidant vitamins and B-carotene in disease prevention. *Am J Clin Nutr* 1991;53: 1985.

Sporn MB, Roberts AB: Role of retinoids in differentiation and carcinogenesis. *Cancer Res* 1983;43:3034.

Suttie JW: The metabolic role of vitamin K. *Fed Proc* 1980;39:2730.

Wiseman H, Halliwell B: Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: Role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem J* 1996;313:17.

الفصل الرابع والخمسون

التغذية

Nutrition

مقدمة:

يبحث علم التغذية في الاحتياجات النوعية والكمية من الغذاء الضرورية للاحتفاظ بصحة جيدة. ويبدو أن جميع مكونات الغذاء اللازمة للمحافظة على الحياة معروفة، لأنه من الممكن إبقاء الإنسان أو الحيوانات الأخرى على غذاء محدد كيميائياً. إلا أنه ما يزال النقاش والجدل يدوران باهتمام حول المتطلبات الكمية من كل مكون في الغذاء، بخاصة وأنها تتغير مع العمر والجنس وأسلوب حياة الفرد. وتوفر الكيمياء الحيوية الأيضية الكثير من المفاهيم عن الأفكار الحديثة للتغذية؛ وقد نوقشت في الأجزاء الأولى من هذا الكتاب. وقد جرى بشكل خاص وصف الأدوار الأيضية، التي تلعبها الفيتامينات الذوابة في الماء والذوابة في الشحم في الفصلين السابقين.

الأهمية الطبية البيولوجية:

إن العوز التغذوي الصريح نادر الحدوث عند الشعوب الأكثر غنى مع أنه قد توجد درجة معينة من العوز التغذوي وسط الفقراء أو الكهول وبين المجموعات ذات المتطلبات التغذوية الخاصة، كالأطفال في طور النمو والنساء الحوامل أو المرضعات والمرضى الأعلاء أو في طور النقاهة والكحوليين، أو الأشخاص الموضوعين على غذاء محدد بالضرورة، كالمرضى على التغذية الوريدية، أو بحكم الاختيار كالنباتيين

(نباتيين بالكامل)، أما عند الشعوب الأكثر حرماناً فتكون حالات العوز الصريحة أكثر انتشاراً، مثل عوز البروتين (الكواشيركور Kwashiorkor)، والڤيتامينات (الڤيتامين A في جفاف الملتحمة)، والمعادن (الحديد الذي يسبب فقر الدم)، والطاقة (المخمصة). وقد يؤدي سوء الامتصاص إلى عوز الغذيات ويسبب حالات مرضية، فمثلاً، سوء امتصاص الڤيتامين B_{12} يسبب فقر الدم. وعلى الرغم من أن البدانة تكون مترافقة دائماً مع الفرط الغذائي، فإن المفهوم عن أن فرط مدخول غذيات خاصة وعلاقتها مع انتشار أمراض معينة في المجتمعات المتطورة هو للتوصل إلى تمييز الحالات كما هو بالنسبة للتصلب العصيدي وداء القلب التاجي والداء السكري وسرطان الثدي والقولون والداء الوعائي الدماغي والسكتات وتشمع الكبد.

يمكن الآن تحديد المتطلبات التغذوية:

يلخص (الجدول 54-1) المتطلبات التغذوية.

تلزم الطاقة لتفعيل جميع وظائف الجسم:

يحتاج جسم الثدييات غذيات كافية لتوفير الطاقة الحرة لصنع الاحتياجات اليومية من الفسفات عالية الطاقة (الـ ATP بشكل رئيسي) والمكافئات المرجعة (2H) الضرورية لعمل جميع وظائف الجسم.

السكريات والدهون هما مصادر الطاقة الأساسية في الغذاء:

تتوافر الغذيات المعطية للطاقة من السكريات والدهون الغذائية وبدرجة أقل من البروتينات وذلك بنسب متفاوتة بشكل كبير بين مختلف التجمعات البشرية والحيوانية. ويمكن أن يؤمن استهلاك الكحول نسبة مهمة أيضاً من مدخول الطاقة.

يشير وزن الجسم الثابت عند الحالات التي تكون الاحتياجات من الطاقة فيها غير متبدلة إلى وجود طاقة كافية في الغذاء للحاجات المباشرة. ويشير (الجدول 54-2) إلى كمية الطاقة المتاحة في المصادر الأساسية للطعام. وهناك حقيقتان

بارزتان هما محتوى الطاقة العالي في كل جرام من الدهن مقارنة مع تلك بالبروتين أو السكريات ومحتوى الطاقة العالي نسبياً للكحول. ويبين (الجدول 54-3) المدخول المنصوح به (المخصص اليومي المحَبَّذ RDA) من الطاقة في مجموعات مختارة من الأفراد.

تؤثر عوامل متعددة في إنفاق الطاقة:

يجب أن يتساوى مدخول الطاقة مع ما ينفق من الطاقة في حالات توازن الطاقة (توازن الكالوري) ويتباين إنفاق الطاقة بشكل واسع في الظروف المختلفة؛ ويمكن قياسه بوضع حيوان داخل حجرة معزولة وقياس نتاج الطاقة المتمثل بفقدان الحرارة والمنتجات المفرغة. ومن الملائم أكثر عادة قياس استهلاك الأكسجين، لأنه في معظم الظروف يكون استهلاك لتر واحد من الأكسجين مسؤولا عن إنفاق 20 كيلو جول تقريباً (4.83 كيلو كالوري) من الطاقة.

تعتمد الطاقة المنفقة من قبل فرد ما على أربعة عوامل رئيسية:

1 – **معدل الأيض الأساسي**: هو الانفاق الطاقي الضروري للمحافظة على الوظائف الفيزيولوجية الأساسية عند شروط معيارية؛ ويجب أن يكون الفرد بوضعية الراحة ويقظ وفي وسط دافئ، ويجب أخذ القياسات بعد 12 ساعة على الأقل من آخر وجبة طعام. ويتناسب معدل الأيض الأساسي مع وزن الجسم الرطب ومع المساحة السطحية للجسم. ويكون أعلى عند الذكور منه عند الإناث، وعند الأطفال الناشئين وعند الأفراد الذين يعانون من الحمى وفرط الدرقية. ويكون أخفض في قصور الدرقية والمخمصة.

2 – **التأثير المولد للحرارة**: (فعل دينمي نوعي) للطعام يساوي 5-10 ٪ تقريباً من إجمالي انفاق الطاقة؛ ويعزى إلى انفاق الطاقة من أجل الهضم أو أي منبه للأيض بسبب تدفق ركيزة (مادة) جديدة.

3 – **الفعالية الفيزيائية (النشاط البدني)**: وهو المتغير الأكثر تأثيراً في إنفاق الطاقة؛ ويكون المجال أكبر بعشرة أضعاف بين حالتي الراحة والفعالية الرياضية القصوى.

4 – **عندما تكون درجة حرارة الوسط منخفضة**: فهي تسبب زيادة إنفاق الطاقة بسبب الفعل المولد للحرارة المترافق أو غير المترافق بالقشعريرة عند الحيوانات التي تحوي دهناً أسمر (الشكل 27-10). ويجري في درجات الحرارة الأعلى من حرارة الدم، يجري إنفاق المزيد من الطاقة من أجل التبريد.

تؤمن البروتينات الأحماض الأمينية النوعية والنتروجين الأميني لتخليق المركبات النتروجينية الأساسية:

إن البروتين في الحالة السوية يؤمن للجسم ما يحتاجه من كل من نتروجين الحمض الأميني والأحماض الأمينية النوعية. ويهضم البروتين الغذائي ويدخل الدوران كأحماض أمينية مستقلة. وتحتاج الأنسجة إلى 20 حمضاً أمينياً لتخليق بروتينات نوعية ومركبات أخرى تحوي النتروجين كالبورينات والبريميدينات والهيم.

الأحماض الأمينية الأساسية هي الأحماض الأمينية اللازمة التي لا يمكن تخليقها في الجسم ولذلك يجب تامينها عن طريق الغذاء:

توجد تسعة أحماض امينية أساسية عند الإنسان هي: الهيستيدين، والإيزولوسين، واللوسين، والليسين، والميثيونين، والفينيل ألانين، والثريونين، والتربتوفان، والفالين (الجدول 54-1). وهناك حمضان أمينيان آخران هما السيستين والتيروزين يمكن أن يتشكلا من الأحماض الأمينية الاساسية، الميثيونين والفينيل ألانين على الترتيب. وإذا وجدت كميات كافية من السيستين والتيروزين في الغذاء، فإنهما يوفران الحاجة من الميثيونين والفينيل ألانين.

وطالما أنه توجد كميات كافية من الأحماض الأمينية الأساسية في الغذاء، فإنه يمكن أن تتشكل الأحماض الأمينية الباقية اللازمة لتخليق البروتين ولأغراض أخرى من خلال نقل الأمين والتفاعلات الأخرى (الشكل 29-1).

	الإنسان	اختلافات مختارة في أنواع أخرى
الأحماض الأمينية	الهيستيدين (1)، الإيزولوسين، اللوسين، الليسين، الميثيونين (السيستين (3))، الفينيل ألانين (التيروزين (3))، الثريونين، التربتوفان، الڤالين.	تحتاج الجرذان للأرجينين (2) للنمو والبلوغ وتحتاجه أيضاً القطط للنمو. ويلزم الجليسين لصغار الدجاج (الصوص)، والتاورين للقطط. معظم الأحماض الامينية غير أساسية عند المجترات. وتؤمَّن الحاجة عند العاشبات الأخرى بوجود أعداد كبيرة من الكائنات الدقيقة في الأمعاء.
الأحماض الدهنية	حمض اللينوليك (حمض الأراكيدونيك (3)) ، حمض α– لينولينيك (4)	إن حمض الأراكيدونيك حاجة نوعية عند القطط
الڤيتامينات الذوابة في الماء الذوابة في الدهن	حمض الأسكوربيك (الڤيتامين C)، البيوتين (5) ، الكوبالامين (B_{12})، حمض الفوليك، النياسين، حمض البانتوثينيك، البيريدوكسين (B_6)، الريبوفلاڤين (B_2)، الثيامين (B_1). الڤيتامينات A و D(6) و E و K(5)	تستطيع معظم الثدييات تخليق حمض الأسكوربيك، لكنه يكون أساسياً في الغذاء عند الرئيسات والخنازير الغينية وخفافيش الفواكه الهندية. والڤيتامينات الذوابة في الماء ليست أساسية عند المجترات. وتؤمَّن المتطلبات عند العاشبات الأخرى بوجود أعداد كبيرة من الكائنات الدقيقة في الأمعاء. يمكن لجميع الأنواع ان تستعمل– β كاروتين كمصدر للڤيتامين A (الريتينول)، ويجب أن يؤمن على شكل ريتينول عند القطط.
المعادن المعادن الكبيرة المعادن الصغيرة (العناصر الزهيدة)	الكالسيوم، الكلور، المغنيزيوم، الفسفور، البوتاسيوم، الصوديوم. الكروم، النحاس، اليود، الحديد، المنجنيز، المولبيدن، السيلينيوم، الزنك.	تبين أن كلا من العناصر التالية أساسي في أنواع مختلفة، وقد يحتاجها الإنسان: السيليكون والڤاناديوم، والنيكل، والزرنيخ، والفلور، والقصدير. ويلزم الكوبالت لتخليق الكوبالامين بوساطة الكائنات الدقيقة في المجترات.
الألياف	مطلوبة للصحة المثالية	
الماء	المكون الأكثر أهمية في الغذاء	
الطاقة	استعمال السكريات والدهون والبروتين بنسب متقاربة	

الجدول 54-1 : الاحتياجات التغذوية الأساسية.

(1) يلزم عند الرضع ومن المحتمل عند الأطفال والبالغين.(2) قد يكون أساسياً بشكل جزئي عند الرضع. (3) يؤمن السيستين والتيروزين وحمض الأراكيدونيك ما يلزم من الميثيونين والفينيل ألانين وحمض اللينوليئيك على الترتيب.(4) ليس واضحاً ما إذا حمض – α – لينولينيك أساسيا في غذاء الإنسان. (5) يتم تخليقه من قبل الكائنات الدقيقة المعوية، لذلك فالحاجة الغذائية له غير أكيدة. (6) إن تعرض الجلد لضوء الشمس يقلل من الحاجة الغذائية له.

	الطاقة: كيلو كالوري/ جرام، (كيلو جول/ج)		
	حرارة الاحتراق (المكلار القلي)	**الأكسدة عند الإنسان**	**عوامل التحويل المعيارية** (2)
البروتين	5.4 (22.6)	4.1 (17.2) (3)	4 (17)
الدهن	9.3 (38.9)	9.3 (38.9)	9 (38)
السكريات	4.1 (17.2)	4.1 (17.2)	4 (17)
الإيثانول	7.1 (29.7)	7.1 (29.7)	7 (29)

الجدول 54-2 : حرارة الاحتراق والطاقة المتاحة من المصادر الأساسية للطعام.

المجموعة	**العمر (سنوات)**	**الوزن**		**حاجات الطاقة**		
		كجم	**ليبرة**	**ك. كالوري**		**(Mj)**
				الوسطى	**المجال**	
الرجال	23 - 50	70	154	2900	3100-2300	12.1
النساء	23 - 50	55	120	2200	2400-1600	9.2
الحوامل				+300		
المرضعات				+500		

الجدول 54-3 : مدخول الطاقة المنصوح به للرجال والنساء.

يتم المحــافظة علــى الــتوازن النــتــروجــيني بالمدخــول الغــذائي (انظـر الفصل 31 أيضا):

يحتـاج الحـيوان البـالغ في حـالـة التـوازن الأيضـي للبـروتـين الغـذائي ليـعـوض الأحماض الأمينية الأساسية ونتروجين الأحماض الأمينية التي فقدت خلال التقلب الأيضي. ويفقد النتروجين في البول والبراز واللعاب والجلد المتوسف والشعر والأظافر. وقد بينت المتطلبات اليومية من البروتين الكلي والأحماض الأمينية الأساسية عند الإنسان في (الجدول 54-4). وعندما تُحسب هذه المتطلبات على أساس وزن الجسم، فإن احتياجات النمو الإضافية عند الرضع والأطفال تكون واضحة تماماً. ويتطلب كل من الحمل والإرضاع وترميم الأنسجة بعد الإصابة والشفاء من الأمراض، وزيادة الفعالية الفيزيائية (النشاط البدني) كلها تتطلب بروتينات غذائية أكثر. وفي أغلب الحالات، فإن غذاءً فيه 12٪ من الطاقة كبروتين هو كاف عند الإنسان.

إن الفعالية التي يســتخدم فيها البروتين هي التي تحدد الكمــية الإجمالية للبروتين المطلوب:

تتأثر كمية البروتين اللازمة بعوامل ثلاث رئيسية هي: نوعية البروتين، ومدخول الطاقة، والفعالية الفيزيائية.

أ ـ نوعية البروتين: تقاس نوعية البروتين بمقارنة نسب الأحماض الأمينية الأساسية في الطعام مع النسب المطلوبة للتغذية الجيدة. وكلما كانت النسبة أقرب، كلما كانت نوعية البروتين أعلى. فبروتينات البيض والحليب هي بروتينات عالية النوعية، وذلك لأنها تستعمل بفعالية من قبل الجسم وتستخدم كمعايير مرجعية يمكن أن تقارن بها البروتينات الأخرى. وبروتينات اللحوم هي أيضاً بروتينات عالية النوعية، في حين يكون العديد من البروتينات في النباتات، التي تستخدم كمصادر رئيسية للطعام، معوزة نسبياً ببعض الأحماض الأمينية الأساسية، كالتربتوفان والليسين في الذرة، والليسين في القمح، والميثيونين في بعض البقول.وفي الغذاء المتنوع، يعوض عن عوز حمض أميني في بروتين ما بغزارته في بروتين آخر، وتوصف مثل هذه البروتينات

بأنها متممة (Complementary)، فمثلاً يوفر إعطاء بروتين البقول سوياً مع بروتين القمح مدخولاً مرضياً من الأحماض الأمينية. وفي مثل هذه الظروف يجب استهلاك كمية إجمالية أكبر من البروتين لتلبية الاحتياجات. فالأحماض الأمينية التي لا تنجبل في البروتين الجديد وتكون غير ضرورية للاحتياجات المباشرة لا يمكن اختزانها فهي تتدرك بسرعة ويفرغ النتروجين على شكل يوريا ونواتج أخرى.

	المتطلبات (مج/كج من وزن الجسم في اليوم)			المدخول (ج/في اليوم)	
	الرضيع (4-6 أشهر)	**الطفل (10-12 عاماً)**	**البالغ**	**المسموح للبالغ (70 كج)**	**المدخول التقديري للبالغ في USA**
البروتين	1100	1000	800	56	101
الحيواني					71
من الخضار					30
الأحماض الأمينية الأساسية	(3-4 أشهر)				
الهيستيدين	28	؟	10	0.70	؟
الإيزولوسين	70	28	10	0.70	5.3
اللوسين	161	42	14	0.98	8.2
الليسين	103	44	12	0.84	6.7
الميثونين (والسيستين)	58	22	13	0.91	2.1
الفينيل ألانين (والتيروزين)	125	22	14	0.98	4.7
الثريونين	87	28	7	0.49	4.1
التريبتوفان	17	3.3	3.5	0.25	1.2
الفالين	93	25	10	0.70	5.7

الجدول 4-54 : المتطلبات من البروتين والأحماض الأمينية والمدخول منها عند الإنسان.

ب ـ مدخول الطاقة: تؤثر الطاقة المشتقة من السكريات والدهون في الاحتياجات البروتينية لأنها تستثني استخدام البروتين كمصدر للطاقة. ومن أجل استخدام البروتين الغذائي الثمين (عالي النوعية) بفعالية ولإنقاص ما يلزم منه إلى الحد الأدنى، فمن الضروري ضمان احتياطي كاف من الطاقة من مصادر غير بروتينية، ويجب أن يكون بعضها من السكريات لاستثناء دخول البروتين في استحداث السكر.

جـ ـ الفعالية الفيزيائية: تزيد الفعالية الفيزيائية احتباس النتروجين من البروتين الغذائي.

يسبب سوء التغذية من البروتين وطاقته السغل والكواشيركور:

يشمل سوء التغذية بالبروتين والطاقة مجالاً من اضطرابات المخمصة (الجوع) وسوء التغذية التي تتضمن حالات عوز غذيات أخرى كالڤيتامينات والمعادن، إضافة للبروتين والدهون والسكريات التي تؤمن الطاقة، ويحدث الشكل الحاد عند الأطفال في طور النمو، عادة دون 5 سنوات من العمر وذلك في المناطق النامية من آسيا وإفريقيا وأمريكا الجنوبية. وهناك شكلان شديدان معروفان هما: السغل والكواشيركور (الفصل 65).

حيث يوجد في السغل (Marasmus) ضمور معمم ناجم عن عوز بكل من الطاقة والبروتين، وهو يحدث بشكل أساسي عند سكان العالم الثالث المعانين من نقص أو مجاعة غذائية مزمنين، لكنه قد يحدث في الدول المتقدمة عند الأفراد المحرومين أو أولئك الذين يعانون من النُهام (Bulimia) والقهم العصابي (Anorexia nervosa).

أما في الكواشيركور (Kwashiorkor) الذي يتميز بالوذمة والبطن المنتفخ الناجم عن تضخم الكبد بسبب تراكم الدهون فقد يكون مدخول الطاقة كافياً لكن يوجد عوز في كل من كمية البروتين ونوعيته. والحالات الأكثر مصادفة هي الواقعة بين السغل والكواشيركور النموذجي، وهناك جدل يدور فيما إذا كان العوز البروتيني وحده يسبب الكواشيركور. وتتفاقم الحالتان بشكل واضح بالعوز العام بالغذيات الأساسية الأخرى، كالڤيتامينات والمعادن.

يمكن تلبية الاحتياجات من الجلوكوز بوساطة العديد من الكربوهيدرات:

يلزم الجلوكوز بشكل نوعي للعديد من الأنسجة لكنه ليس من الضروري أن يوفر في الغذاء بشكل جلوكوز لأن الكربوهيدرات الغذائية الأخرى تتحول بسهولة إلى جلوكوز، إما في أثناء الهضم (كالنشا)، أو لاحقاً في الكبد (كالفركتوز والجالاكتوز؛ الفصل 22). ويتشكل الجلوكوز أيضاً من الجزء الجليسرولي في الدهون ومن الأحماض الأمينية المولدة للسكر في سبيل استحداث السكر (الفصل 21). وعلى الرغم من أنه يُنصح بمدخول متدنٍ من الكربوهيدرات يومياً (50-100جم) عند الإنسان لمنع حدوث فرط كيتون الجسم (الفصل 29)، وضياع بروتين العضلات، فإن الغذاء المتوازن يجب أن يحوي كربوهيدرات أكثر منها في شكل عديد السكريد لإنقاص كمية الدهون التي ستكون خلافاً لذلك مطلوبة للطاقة. وقد نوقشت المواد الغذائية الرئيسية التي تحوي الكربوهيدرات في الفصل 15.

الألياف ضرورية للصحة المثالية:

تتألف الألياف (Fibers) الغذائية من جميع مكونات جدار الخلية النباتية التي لا يمكن هضمها من قبل إنزيمات الحيوان بحد ذاته، كالسلولوز، والسلولوز النصفي والليجنين والصموغ والبكتينات والبنتوزانات. وتعد الألياف (كسلولوز بشكل رئيسي) المصدر الرئيسي للطاقة عند العواشب كالمجترات، وذلك بعد أن يجري هضمها من قبل الكائنات الدقيقة في الكرش وتحويلها إلى أسيتات وبروبيونات وبوتيرات، التي تمتص إلى الوريد البابي.

وقد يسهم التخمر القولوني أيضاً بمتطلبات الطاقة عند الإنسان (2-7٪ عند المدخول منخفض الألياف). وينتج أيضاً غازات مثل CO_2 و H_2 وأحياناً CH_4.

يساعد الغذاء ذو المحتوى العالي من الألياف عند الإنسان على احتباس الماء خلال مرور الطعام عبر الأمعاء، ومنتجاً برازاً أكثر وأرطب. ويترافق الغذاء الغني بالألياف مع انخفاض معدل حدوث الرتاج (Diverticulosis) وسرطان القولون والداء القلبي الوعائي والداء السكري.

الجدير ذكره هنا أن الألياف الصعبة الذوبان كالسلولوز والليجنين الموجود في نخالة القمح تكون مفيدة بالنسبة لوظيفة القولون، في حين أن الألياف الذوابة أكثر والموجودة في البقول والفاكهة كالصموغ والبكتينات تخفض كوليسترول الدم، على الأغلب بارتباط الأحماض الصفراوية مع الكوليسترول الغذائي. وتقوم الألياف الذوابة بإبطاء حركة إفراغ المعدة وهي تؤخر وتخفف ارتفاع سكر الدم بعد وجبة الطعام، مع الإنقاص اللاحق في إفراز الإنسولين. ويكون هذا التأثير مفيداً للمصابين بالسكري وللذين يتبعون حمية غذائية لأنه يقلل من الهبوط الارتدادي في سكر الدم والذي ينبه الشاهية.

الشحميات ضرورية كحمَال للفيتامينات الذوابة في الشحم وللتزويد بالأحماض الدهنية الاساسية:

على الرغم من أن الشحميات كثيراً ما توفر نسبة كبيرة من الحاجة الغذائية للطاقة، فإن هذه ليست وظيفتها الأساسية. فبغض النظر عن ازدياد لذة مذاق الطعام وإعطاء إحساس بالشبع التام، فإن للشحم الغذائي وظيفتين أساسيتين في تغذية الثدييات. فهي تعمل كحمال غذائي للفيتامينات الذوابة في الشحم، وتمد بالأحماض الدهنية متعددة اللاإشباع التي لا يستطيع الجسم تخليقها. وقد تم تعريف ثلاثة أحماض دهنية متعددة اللاإشباع كأساسية في الغذاء بالنسبة لبعض الحيوانات على الأقل وهي: حمض اللينولييك (18:2 ، ω6)، وحمض α– لينولينيك (18.3 ، ω3)، وحمض الأراكيدونيك (20:4 ، ω6).. وتوجد هذه الأحماض في شحميات الطعام النباتي والحيواني (انظر الجدول 16-2). وانظر أيضاً (الفصل 25) لمناقشة أيضها. قد يتشكل حمض الأراكيدونيك عند الإنسان من حمض اللينولييك، وهو ليس أساسياً إذا وجدت كمية كافية من حمض اللينولييك في الغذاء. والجدير ذكره أن المناقشة مستمرة حول ما إذا كان حمض α ـ لينولينيك هو أساسي فعلاً عند الإنسان. ويكون عوز حمض اللينولييك نادراً، ولكنه قد يحدث عند الرضع الذين تتم تغذيتهم بحليب مقشود، وعند المرضى على التغذية الوريدية بغذاء خال من الشحميات.

إن الوظيفة الأساسية للأحماض الدهنية الأساسية هي العمل كطلائع للوكوترينات والليبوكسينات والبروستاجلاندينات والثرومبوكسانات (انظر الشكل 25-6)، التي تعمل كهرمونات موضعية. وفي حال تم الإمداد بمدخول غذائي فيه 1-2٪ من الحاجة الإجمالية للطاقة بشكل أحماض دهنية أساسية فهو يمنع حدوث عوز إكلينيكي.

توجد علاقة بين استهلاك الدهون والمرض:

بينت عدة دراسات وجود علاقة بين الداء القلبي التاجي وكوليسترول الدم واستهلاك الدهون، بخاصة الدهون المشبعة (الفصل 28). ويترافق الاستهلاك المرتفع من الدهون أيضاً مع سرطان الثدي والقولون. ويكون المصدر الرئيسي للدهون المشبعة في غذاء الإنسان هو لحوم المجترات ومشتقات الحليب والمرجرين (دهون نباتية) الجامد. ويوجد الكوليسترول فقط في الأطعمة ذات المنشأ الحيواني وبخاصة في مح البيض.

تنجز الفيتامينات وظائف كيميائية حيوية متنوعة:

الفيتامينات غذيات عضوية تحتاجها العضوية بكميات صغيرة للعديد من الوظائف الكيميائية الحيوية المختلفة؛ ولا يمكن عموماً تخليقها في الجسم، لذلك يجب أن تؤمَّن عن طريق الغذاء. ويحتاج الإنسان إلى كميات تقدر إما بالمليجرامات أو بالمكروجرامات من كل فيتامين في اليوم. وتصنف الفيتامينات إلى مجموعتين أساسيتين:

- الفيتامينات الذوابة في الماء، والتي نوقشت بشكل كامل في (الفصل 25).
- الفيتامينات الذوابة في الشحم التي نوقشت أيضاً بشكل كامل في(الفصل 53).

تتضمن الفيتامينات الذوابة في الماء المجموعة B (الثيامين، والريبوفلافين، والنياسين، وحمض البانتوثينيك، والفيتامين B_6، والبيوتين، والفيتامين B_{12}، وحمض

الفوليك)، وحمض الأسكوربيك (الڤيتامين C). وتمتص الڤيتامينات الذوابة في الماء إلى الوريد البابي الكبدي، ويفرغ أي فائض من أغلبها في البول، وبهذا الشكل يوجد اختزان قليل من الڤيتامين الحر، الأمر الذي يوجب التزويد المستمر منه في الغذاء في معظم الحالات.

ويجري اختزان القليل من حمض الفوليك في الكبد. وقد يستغرق نفاد حمض الأسكوربيك عدة أشهر، وعدة سنوات من أجل الڤيتامين B_{12} (الذي يختزن في الكبد أيضاً). ويمكن القول عموماً إنه من الممكن تحمل المدخول المفرط بشكل جيد فيما عدا التأثيرات الجانبية التي تحدث بالجرعات الكبيرة من النياسين (بشكل حمض النيكوتينيك)، أو حمض الأسكوربيك أو البيريدوكسين (الڤيتامين B_6).

توجد الڤيتامينات الذوابة في الدهن (الڤيتامينات A, D, E, K) في شحميات الطعام ذات المنشأ النباتي والحيواني على حد سواء، وهي تهضم مع الدهون وتمتص من الأمعاء وتنجبل بالدقائق الكيلوسية. ثم تنقل بشكل رئيسي في بقايا الدقائق الكيلوسية إلى الكبد بشكل خاص، الذي يعمل كمخزن رئيسي للڤيتامينات K, D, A. ويكون النسيج الشحمي هو مصدر الاختزان الأساسي للڤيتامين E. ولا تفرغ الڤيتامينات الذوابة بالدهن في البول، وإذا أخذت بكميات زائدة تكون سامة (بخاصة الڤيتامينات D, A). يبين (الجدول 54-5) بعض الأمراض المتعلقة بأيض تمائم العامل التي تستجيب للمعالجة بڤيتامينات نوعية.

يؤدي عدم اتاحة الڤيتامينات، سواء الناجم عن أسباب غذائية أو غيرها (كالعيوب في الامتصاص)، إلى متلازمات عوز مميزة. وقد أعطيت تفاصيل هذه الاضطرابات في (الفصلين 52 و 53).

المعادن ضرورية لكل من الوظائف الفيزيولوجية والكيميائية الحيوية:

يمكن أن نقسم المعادن بشكل كيفي إلى مجموعتين:

1– المعادن الكبيرة (Macrominerals): التي تلزم بكميات أكبر من 100 ملج/يوم.

2 – المعادن الصغيرة (Microminerals): (العناصر الزهيدة): التي تلزم بكميات أقل من 100ملج/يوم.

ويلخص (الجدول 54-6) خصائص المعادن الكبيرة، والأمر ذاته في (الجدول 54-7) بالنسبة للعناصر الزهيدة.

الڤيتامين	المرض	العيب الكيميائى الحيوي
البيوتين	أحماضة الدم بالبروبيونات	كربوكسيلاز بروبيونيل – CoA
الڤيتامين B_{12}	بيلة حمض الميثيل مالونيك	تشكيل تميم الإنزيم للكوباميد
حمض الفوليك	سوء امتصاص الفولات	نقل حمض الفوليك
النياسين	داء هارتنوب	نقل التربتوفان
البيريدوكسين (الڤيتامين B_6)	الاختلاجات عند الأطفال بيلة السيستاثيونين بيلة الهوموسيستين	نازعة كاربوكسيل حمض الجلوتاميك (؟) السيستاثيونيناز سنثار السيستاثيونين سنثار السيستاثيونين
الثيامين	فرط الانين الدم الحماض اللبني المستجيب للثيامين	نازعة هيدروجين البيروڤات

الجدول 54-5 : المتلازمات المستجيبة للفيتامين. أمثلة عن عيوب نوعية في أيض تمائم العامل الڤيتامينية، التي يمكن تصحيحها بالمعالجة بالڤيتامينات، وتتطلب عادة جرعات كبيرة جداً.

المخـصصـات الغـذائية المـنصوح بهـا (المخـصصـات اليـوميـة المحبذة) (RDAs):

لقد نشرت مراجعة عن الاحتياجات اليومية من الغذيات الأساسية من قبل هيئة التغذية والطعام في المجلس الوطني للأبحاث بشكل مخصصات غذائية منصوح بها (الجدول رقم 54-8). وتعطي هذه المخصصات التباينات الفردية وسط معظم الأفراد الأسوياء الذين يعيشون في شروط عادية في بيئتهم. ولا تقدم هذه المخصصات المتطلبات الإضافية في المرض أو الاضطرابات المرضية. ويجب أن يعتمد الغذاء على أطعمة متنوعة، لكي يغطي الحاجات المعروفة وليؤمن الغذيات الأخرى التي لم تحدد احتياجات الإنسان منها بشكل جيد. ويغطي (الجدول 54-8) الحاجة من البروتينات وعشر ڤيتامينات وست معادن. وتتوافر معطيات قليلة جداً توضح الـ RDAs بالنسبة لبقية الڤيتامينات والمعادن.

إلا أن (الجدول 54-9) يعطي مجالات المدخول من هذه الغذيات التي تبدو أنها آمنة وكافية. ويجب أن توفر الاحتياجات التغذوية للوقاية من أمراض العوز واعتلال الصحة. ويعد كل من الجهل والظروف الاقتصادية الفقيرة بشكل دائم تقريباً السبب المستبطن في الإخفاق في تلبية المتطلبات التغذوية. ومن جانب آخر تترافق بعض الأمراض الشائعة مع مدخول مفرط من الغذيات. وتعكس البدانة عموماً مدخولاً مفرطاً من الطاقة، وتترافق غالباً مع حدوث الداء السكري غير المعتمد على الإنسولين. ويترافق كل من التصلب العصيدي والداء القلبي التاجي مع الغذاء الغني بالدهون الإجمالية وبالدهون المشبعة. ويرتبط سرطان كل من الثدي والقولون والبروستاتة مع مدخول عالي الدهون. ويترافق حدوث الداء الوعائي الدماغي وفرط ضغط الدم بشكل متكرر مع مدخول عال من ملح الطعام.

العناصر	الوظائف	الأيض (1)	أمراض أو أعراض العوز	أمراض أو أعراض التسمم (2)	المصادر (3)
الكالسيوم	مكون في العظام والأسنان، تنظيم الوظيفة العصبية والعضلية	يحتاج الامتصاص للبروتين الرابط للكلسيوم. يُنظَّم بالڤيتامين D، وبهرمون الدريقات وبالكالسيتونين... إلخ	الأطفال: الرخد. البالغين: تلين العظام. ويمكن أن يسهم في تخلخل العظام	يحدث مع فرط امتصاص ناجم عن فرط الڤيتامين D وفرط الكالسيوم بالدم الناتج عن فرط بنشاط الدريقة أو فرط كالسيوم الدم الغامض	منتجات الألبان والبقول والخضار الورقية
الفسفور	مقوم في العظام والأسنان و ATP والمتوسطات الأيضية المفسفتة والأحماض النووية	مراقبة الامتصاص غير معروف (الڤيتامين D?) ينظِّم المستوى بالمصل بإعادة الامتصاص الكلوي	الأطفال: الرخد. البالغين: تليّن العظام	تنبّه النسبة المنخفضة من Ca^{2+}: Pi فرط الدريقات الثانوي، وقد يؤدي إلى خسارة بالعظم	الاضافات الطعامية الفسفاتية
الصوديوم	الكاتيون الأساسي في السائل خارج الخلوي. ينظم حجم البلازما والتوازن حمض ـ أساس والوظيفة العصبية والعضلية Na^+/K^+-ATPase	يُنظَّم بالألدوستيرون	غير معروف في الغذاء السوي، ثانوي للإصابة أو للاعتلال	فرط ضغط الدم (عند الأفراد ذوي الاستعداد)	ملح الطعام، الملح المُضاف إلى الطعام المحضَّر
البوتاسيوم	الكاتيون الأساسي في السائل داخل الخلوي؛ ضروري للوظيفة العصبية العضلية، ولـ Na^+/K^+-ATPase	يُنظَّم ايضاً بالألدوستيرون	يحدث بشكل ثانوي للاعتلال أو للأذية أو للمعالجة بالمبيلات؛ ضعف عضلي، شلل، تشوش ذهني.	توقف القلب، قرحات بالأمعاء الدقيقة	الخضار والفواكه والمكسرات
الكلور	توازن السوائل والكهارل، السائل المعدي. انزياح الكلور في نقل HCO_3^- في الكريات الحمراء		الرضع الذين يتغذون بصيغ خالية من الملح، ثانوي للقياء، المعالجة بمدرات البول، الأمراض الكلوية		ملح الطعام
المغنيزيوم	مقوم في العظام والأسنان، تميم عامل إنزيمي (لإنزيمات الكيناز وغيرها)		ثانوي لسوء الامتصاص أو للاسهال، الكحولية	كبت المنعكسات الوترية العميقة والتنفس	الخضر ذات الأوراق الخضراء (التي تحوي الكلوروفيل)

الجدول 54-6 : المعادن الكبيرة الأساسية: ملخص عن المميزات الرئيسية.

(1) تحتاج المعادن عموماً بروتينات حاملة للامتصاص. ونادراً ما يكون الامتصاص تاماً؛ وهو يتأثر بالغذيات والمركبات الأخرى في الغذاء (كالاكسالات والفيتات التي تستخلب الكاتيونات ثنائية التكافؤ). ويحتاج كل من النقل والاختزان لبروتينات خاصة أيضاً. ويحدث الإفراغ في البراز (المعادن غير الممتصة ومن الصفراء) وفي البول والعرق.(2): يُسبب مدخول المعادن المفرط أعراضاً سمية. وفي حال لم تكن نوعية فإن الأعراض تتضمن غثياناً غير نوعي وإسهالاً وتهيّجاً.

(3): تُوَفَّر المتطلبات المعدنية عن طريق مدخول متنوع من كميات كافية من الحبوب الكاملة والبقول والخضر ذات الأوراق الخضراء واللحوم ومنتجات الالبان.

العناصر	الوظائف	الأيض (1)	أمراض أو أعراض العوز	أمراض أو أعراض التسمم	المصادر الجيدة (2)
الكروم	الكروم ثلاثي التكافؤ مقوم بعامل تحمُّل الجلوكوز، الذي يرتبط بالإنسولين ويُنَشِّطَه		اضطراب تحمّل الجلوكوز؛ ثانوي للتغذية زرقاً		اللحوم، الكبد، خميرة البيرة، الحبوب الكاملة، المكسرات، الأجبان
الكوبالت	يلزم كمقوم بالڤيتامين B_{12} فقط	كما هو بالنسبة للڤيتامين B_{12}	عوز الڤيتامين B_{12}		الطعام ذو المنشأ الحيواني
النحاس	مقوم بإنزيمات الأكسيداز وأكسيداز السيتوكروم c، وغيرها، دهنيوتاز فوق الاكسيدي بالعصارة الخلوية. دور في امتصاص الحديد	يُنقل بالألبومين، يرتبط إلى السيرولوبلازمين	فقر الدم (ناقص الصباغ، صغير الكريات)، ثانوي لسوء التغذية، متلازمة منكه (Menke)	نادر؛ ثانوي لداء ولسون (Wilson)	الكبد
اليود	مقوم بالثيروكسين، ثلاثي يود الثيريونين	يُختزن في الدرق بشكل ثيروجلوبين (الجلوبلين الدرقي)	الأطفال: الفدامة. البالغين: دراق وقصور درقية ووذمة مخاطية	الانسمام الدرقي؛ الدُراق	الملح الميودن، المأكولات البحرية
الحديد	مقوم بالإنزيمات الهيمية (الهيموجلوبين السيتوكرومات...إلخ)	يُنقل على شكل ترانسفرين؛ ويخزن بشكل فريتين أو هيموسيدرين؛ يُفقد في الخلايا المتوسفة وعن طريق النزف	فقر الدم (ناقص الصباغ، صغير الكريات)	سُحار حديدي، الصباغ الدموي الوراثي	اللحوم الحمراء، الكبد، البيض. حديد آنية الطبخ.
المنجنيز	تميم العامل لإنزيمات الهيدرولاز، ونازعات الكربوكسيل والناقلات. تخليق البروتين السكري والجليكانات البروتينية، دهنيوتاز فوق الأكسيدي المتقدري.		غير المعروف عند الإنسان	يسبب الانسمام بالاستنشاق أعراضاً ذهانية والبركنسونية	

[تابع] الجدول 7-54

العناصر	الوظائف	الأيض (1)	أمراض أو أعراض العوز	أمراض أو أعراض التسمم	المصادر الجيدة(2)
الموليبدنم	مقوم بإنزيمات الأكسيداز (أكسيداز الزنتين)		ثانوي للتغذية حقناً		
السيلينيوم	مقوم في بيروكسيداز الجلوتاثيون	مضاد تأكسد تآزري مع الڤيتامين E	عوز هامشي عندما يكون محتوى التربة منخفضاً، ثانوي للتغذية حقناً، سوء التغذية بالبروتين والطاقة	مستويات سامة في بعض أنواع التربة، يُحرض التزويد بجرعات كبيرة فقدان الشعر والتهاب الجلد والتهيج.	النباتات، لكنه يتفاوت مع محتوى التربة. اللحوم
السيليكون (3)	دور في تكلس العظم وفي أيض جليكانات الجلوكوز أمين في الغضروف وفي النسيج الضام		اضطراب النمو السوي	الداء السيليكوني الناجم عن الاستنشاق طويل الأمد لغبار السيليكا	الأطعمة النباتية
الزنك (التوتياء)	تميم عامل للعديد من الإنزيمات: نازعة هيدروجين اللاكتات والفسفاتاز القلوية، وأنهيدراز الكربونيك..إلخ. تشكيل أصابع التوتياء في المستقبلات النووية للهرمون الستيرويدي، ومستقبلات الكالسيتريول		قصور الغدد التناسلية، قصور النمو، سوء شفاء الجروح، تناقص حدة الذوق والشم، ثانوي لالتهاب جلد الأطراف المعائي، التغذية حقناً	تهيج معدي معوي، قياء	
الفلور (4)	يزيد قساوة العظام والأسنان		نخر الأسنان تخلخل العظام (؟)	تسمم الأسنان بالفلور	مياه الشرب

الجدول 7-54: المعادن الصغيرة الأساسية «العناصر الزهيدة»: ملخص عن المميزات الأساسية

(1) يسبب فرط مدخول المعادن أعراضاً سمية، وإن لم تكن نوعية فإن الأعراض تشمل غيثاناً لا نوعياً وإسهالاً وتهيجاً .(2) توفُّر الاحتياجات من المعادن عن طريق مدخول متنوع من كميات كافية من الحبوب الكاملة والبقول والخضروات ذات الأوراق الخضراء، واللحوم ومنتجات الألبان.(3) لم يتبين للآن أنه أساسي للأنسان لكنه ضروري للعديد من الحيوانات. (4) الفلور ضروري للنمو عند الجرذان، لكن لم يثبت أنه أساسي لتغذية الإنسان بشكل دقيق. وللفلور دور معروف في الوقاية من نخر الأسنان ومعالجته.

العمر		الوزن		الطول		الفيتامينات الذوابة في الشحم					الفيتامينات الذوابة في الماء							المعادن						
	سنوات	ليبرة	كج	سم		البروتين (جم)	فيتامين A مكج (1)(ET)	فيتامين D مكج (2)	فيتامين E مكج (3)(ET)	فيتامين K (مكج)	فيتامين C (مج)	ثيامين (مج)	ريبو فلافين (مج)	نياسين (مجNE)4	فيتامين B_6 (مج)	فولات (مكج)	فيتامين B_{12} (مكج)	كالسيوم (مج)	فسفور (مج)	مغنيزيوم (مج)	حديد (مج)	زنك (مج)	يود (مكج)	سيلينوم (مكج)
الرضع	0.0-0.5	6	13	60	24	13	375	7.5	3	5	30	0.3	0.4	5	0.3	25	0.3	400	300	40	6	5	40	10
	0.5-0.1	9	20	71	28	14	375	10	4	10	35	0.4	0.5	6	0.6	35	0.5	600	500	60	10	5	50	15
الأطفال	1-3	13	29	90	35	16	400	10	6	15	40	0.7	0.8	9	1.0	50	0.7	800	800	80	10	10	70	20
	4-6	20	44	112	44	24	500	10	7	20	45	0.9	1.1	12	1.1	75	1.0	800	800	120	10	10	90	20
	7-10	28	62	132	52	28	700	10	7	30	45	1.0	1.2	13	1.4	100	1.4	800	800	170	10	10	120	30
الذكور	11-14	45	99	157	62	45	1000	10	10	45	50	1.3	1.5	17	1.7	150	2.0	1200	1200	270	12	15	150	40
	15-18	66	145	176	69	59	1000	10	10	65	60	1.5	1.8	20	2.0	200	2.0	1200	1200	400	12	15	150	50
	19-24	72	160	177	70	58	1000	10	10	70	60	1.5	1.7	19	2.0	200	2.0	1200	1200	350	10	15	150	70
	25-50	79	174	176	70	63	1000	5	10	80	60	1.5	1.7	19	2.0	200	2.0	800	800	350	10	15	150	70
	51+	77	170	173	68	63	1000	5	10	80	60	1.2	1.4	15	2.0	200	2.0	800	800	350	10	15	150	70
الإناث	11-14	46	101	157	62	46	800	10	8	45	50	1.1	1.3	15	1.4	150	2.0	1200	1200	280	15	12	150	45
	15-18	55	120	163	64	44	800	10	8	55	60	1.1	1.3	15	1.5	180	2.0	1200	1200	300	15	12	150	50
	19-24	58	128	164	65	46	800	10	8	60	60	1.1	1.3	15	1.6	180	2.0	1200	1200	280	15	12	150	55
	25-50	63	138	163	64	50	800	5	8	65	60	1.1	1.3	15	1.6	180	2.0	800	800	280	15	12	150	55
	51+	65	143	160	66	50	800	5	8	65	60	1.0	1.2	13	1.6	180	2.0	800	800	280	10	12	150	55
						60	800	10	10	65	70	1.5	1.6	17	2.2	400	2.2	1200	1200	320	30	15	175	65
						65	1300	10	12	65	95	1.6	1.8	20	2.1	280	2.6	1200	1200	355	15	19	200	75

الجدول 8-54: المخصصات الغذائية اليومية المنصوح بها (المُحَبَّذة) يومياً. وهي للمحافظة على تغذية جيدة لدى غالبية الأفراد الأصحاء في الولايات المتحدة الأمريكية.

(1) مكافئات الريتينول، 1 مكافئ ريتينول= 1 مكج من الريتينول أو6 مكج منβ – كاروتين.(2): بشكل الكوليكالسيفيرول؛ 10 مكج منه = IU 400 (وحدة دولية) من الفيتامين D.(3): مكافئات α– توكوفيرول. 1مج α– توكوفيرول = (4) TE–α1 (مكافئ النياسين) = 1مج من النياسين أو 60 مج من التربتوفان الغذائي.

الڤيتامينات				العناصر الزهيدة						الكهارل	
	العمر سنوات	البيوتين (مكج)	حمض البانتوثينيك (مج)	النحاس (مج)	المنجنيز (مج)	الفلور (مج)	الكروم (مج)	الموليبدين (مكج)	الصوديوم (مج)	البوتاسيوم (مج)	الكلور (مج)
الرضع	0.5-0	10	2	0.6-0.4	0.6-0.3	0.5-0.1	0.04-0.01	30-15	350-115	925-350	700-275
	1-0.5	15	3	0.7-0.6	1.0-0.6	1.0-0.2	0.06-0.02	40-20	750-250	1275-425	1200-400
الأطفال والمراهقون	3-1	20	3	1.0-0.7	1.5-1.0	1.5-0.5	0.08-0.02	50-25	975-325	1650-550	1500-500
	6-4	25	4-3	1.5-1.0	2.0-1.5	2.5-1.0	0.12-0.03	75-30	1350-450	2325-775	2100-700
البالغون	10-7	30	5-4	2.0-1.0	3.0-2.0	2.5-1.5	0.2-0.05	150-50	1800-600	3000-1000	2775-925
	11+	100-30	7-4	2.5-1.5	5.0-2.0	2.5-1.5	0.2-0.05	250-75	2700-900	4575-1525	4200-1400
		100-30	7-4	3.0-1.5	5.0-2.0	4.0-1.5	0.2-0.05	250-75	3300-1100	5625-1875	5100-1700

الجدول 9-54 : المدخول الغذائي اليومي الآمن والكافي المقدر لڤيتامينات ومعادن مختارة.

تم استقصاء عدة مجتمعات في أرجاء العالم حول تركيب الغذاء البشري، ووضعت نصائح لتحسينه. ويمكن تلخيص هذه النصائح كما يلي:

1 – إذا كان الوزن زائداً؛ يجب إنقاص مدخول الطاقة الكلي للوصول إلى الوزن المثالي.

2 – يجب التحول عموماً من استهلاك الدهون إلى الاستهلاك الأكثر للسكريات.

3 – يجب استهلاك نسبة أكبر من السكريات بشكل سكريات معقدة، ونسبة أقل بشكل سكاكر (Sugars).

4 – يجب أن تكون النسبة الأكبر من الدهون الغذائية بشكل دهون وحيدة وعديدة اللاإشباع ونسبة أقل بشكل دهون مشبعة.

5 – ينبغي إنقاص استهلاك الكوليسترول والملح.

6 – يجب زيادة الألياف الغذائية.

7 – يجب زيادة استهلاك الفواكه والخضار بشكل خاص من أجل غذيَّاتها المضادة للتأكسد.

الخلاصة:

1– تهتم التغذية بكل من الاحتياجات النوعية والكمية من الغذاء. وتعرف حالياً وبشكل فعلي جميع المتطلبات النوعية، لكن ما يزال هناك جدل مهم حول الكميات اللازمة من كل غذية للصحة المثالية.

2 – يجب أن يؤمن الغذاء ما يكفي من الطاقة لعمل جميع وظائف الجسم. وتختلف الحاجة للطاقة مع العمر والجنس والنشاط الفيزيائي ودرجة حرارة الوسط البيئة.

3 – يلزم عشرون حمضاً أمينياً مختلفاً لتخليق البروتين، تسعة منها أحماض أمينية أساسية تغذوياً، يجب تأمينها في غذاء الإنسان. وتتأثر كمية البروتين المطلوبة بنوعية البروتين ومدخول الطاقة والنشاط البدني.

4 – يمكن تأمين الاحتياجات من الجلوكوز عن طريق الكربوهيدرات الأخرى، وبخاصة النشا، لكن تكون المتطلبات من الشحميات أكثر نوعية، لأنه لا يمكن تخليق أحماض دهنية معينة متعددة اللاإشباع من الفصائل n-3 و n-6، ويجب تأمينها من الغذاء.

5 – الفيتامينات أيضاً متطلبات غذائية أساسية. وتكون مجموعة المركب B الذوابة في الماء بشكل رئيسي تمائم عامل إنزيمية، في حين يلزم حمض الأسكوربيك (الفيتامين C) الذواب في الماء أيضاً كمضاد تأكسد، للمحافظة على تمائم العامل المعدنية في الحالة المرجعة. للفيتامينات الذوابة في الشحم عدة وظائف، من الرؤية (الفيتامين A)، وأيض الكلسيوم والفسفات (الفيتامين D)، والتجلط (الفيتامين K)، إلى الخصائص المضادة للتأكسد للفيتامينين E و β– كاروتين (طليعة الفيتامين A).

6 – تعنى التغذية المعاصرة أيضاً بفرط الغذاء، حيث أنه يترافق مع أمراض كالبدانة والداء السكري غير المعتمد على الإنسولين والتصلب العصيدي والسرطان وفرط ضغط الدم.

*** References:**

Burk RF, Hill KE: Regulation of selenoproteins. *Annu Rev Nutr* 1993;13:65.

Eastwood M: The physiological effect of dietary fiber: an update. *Annu Rev Nutr* 1992;12:19.

Forbes JM: Metabolic aspects of the regulation of voluntary food intake and appetite. *Nutr Res Rev* 1988; 1:145.

Fuller MF, Garlick PJ: Human amino acid requirements. *Annu Rev Nutr* 1994;14:217.

Kritchevsky D: Dietary fiber. *Annu Rev Nutr* 1988;8:301.

National Academy of Sciences report on diet and health. *Nutr Rev* 1989,47: 142.

Nestle M: *Nutrition in Clinical Practice.* Jones Medical Publications, 1985.

Nielsen FH: Nutritional significance of the ultratrace elements. *Nutr Rev* 1988;46:337.

Olson RE et al (editors): *Present Knowledge in Nutrition,* 5th ed. Nutrition Foundation, 1984.

Passmore R, Eastwood MA: *Human Nutrition and Dietetics,* 8th ed. Churchill Livingstone, 1986.

Stadtman TC: Selenium biochemistry. *Annu Rev Biochem* 1990;59:111.

Taylor A: Associations between nutrition and cataract. *Nutr Rev* 1989,47:225.

Woo R, Daniels-Kush R, Horton ES: Regulation of energy balance. *Annu Rev Nutr* 1985;5:411.

الفصل الخامس والخمسون

الهضم والامتصاص

Digestion and Absorption

مقدمة:

يتناول الكائن الحي معظم المواد الغذائية في أشكال غير متاحة بالنسبة له، لأنه لا يمكن امتصاصها من السبيل الهضمي إلا بعد أن يتم تحطيمها إلى جزيئات أصغر. ويعرف تحلل المواد الغذائية الموجودة طبيعياً إلى الأشكال القابلة للتمثل (Assimilable) بعملية الهضم.

تتحقق التحولات الكيميائية التابعة لعملية الهضم بمساعدة إنزيمات الهيدرولاز (الحلمهة) في السبيل الهضمي، والتي تحفز حلمهة: البروتينات الطبيعية إلى أحماض أمينية، والنشويات إلى أحاديات السكريد، والجليسرولات ثلاثية الأسيل إلى جليسرولات أحادية الأسيل وجليسرول وأحماض دهنية.

وفي مجرى هذه التفاعلات الهضمية، تجعل المعادن والڤيتامينات في المواد الغذائية أكثر قابلية للتمثل أيضاً، وقد تم في (الفصل 51) مناقشة طبيعة الهرمونات المعدية المعوية ووظائفها بشكل منهجي.

الأهمية الطبية البيولوجية:

تنشأ بعض الحالات الإكلينيكية عن عيوب في العمليات الهضمية، مثل التقرح (Ulceration) بسبب HCl المعدي، أو تناقص إفراز الحمض HCl الذي يسبب اللاكلوريدية (فقد حمض الهدروكلوريك) (Achlorhydria). وتؤدي العيوب في إفراز

الصفراء إلى الحصيات الصفراوية (Gallstones)، أو لاضطرابات في هضم الشحميات. ويسبب قصور الإفراز الخارجي البنكرياسي في التليف الكيسي (Cystic Fibrosis) حدوث الإسهال الدهني. وينجم سوء امتصاص الغذيات عن عيوب متنوعة وكثيرة وغالباً ما تؤدي إلى عوز تغذوي؛ فمثلاً، يسبب سوء امتصاص الڤيتامين B_{12} والفولات حدوث فقر الدم، وتقود العيوب في امتصاص الكلسيوم والمغنيزيوم إلى التكزز (Tetany)، ويؤدي سوء امتصاص الڤيتامين D إلى الرخد وتلين العظام؛ وتشمل متلازمة سوء الامتصاص العام كل هذه العيوب وغيرها ويؤدي عوز اللاكتاز إلى لا تحمل الحليب (Milk Intolerance)، وتسهم العيوب في امتصاص الأحماض الأمينية المتعادلة في نشوء داء هارتنوب (Hartnup Disease).

يبدأ الهضم في جوف الفم:

يتألف اللعاب، الذي تفرزه الغدد اللعابية من نحو 99.5 ٪ من الماء، وهو يحوي بروتين سكري هو الميوسين (Mucin)، الذي يعمل كمزلق للمضغ والبلع. وتوفر إضافة الماء إلى الطعام الجاف وسطاً يمكن أن تذوب فيه جزيئات الطعام وحيث يمكن لإنزيمات الهيدرولاز أن تبدأ الهضم. ويقوم المضغ بتقسيم الطعام إلى أجزاء صغيرة، مما يزيد ذوبانها ومساحتها السطحية لتلقي الهجوم الإنزيمي. ويعد اللعاب وسيلة لإفراغ أدوية معينة (مثل الإيثانول والمورفين) وأيونات لا عضوية مثل K^+، Ca^{+2}، HCO^-_3 والثيوسيانات (-SCN) واليود، والجلوبلينات المناعية (IgA) وتكون pH (درجة الحموضة) اللعاب عادة 6.8 تقريباً، رغم أنها قد تختلف على أحد جوانب التعادل.

يحوي اللعاب الأميلاز:

الأميلاز اللعابي –α (Salivary α-amylase) قادر على إنجاز حلمهة النشا والجليكوجين إلى مالتوز وأحاديات سكريد أخرى عن طريق مهاجمة الروابط α (4 ← 1) جليكوزيدية. ويتعطل الأميلاز اللعابي بشكل سريع عند باهاء (pH)=4.0 أو أقل، بحيث يتوقف الفعل الهضمي على الطعام في الفم حالما يتغلغل الوسط

الحمضي للمعدة بين جزيئات الطعام. ويكون الأميلاز اللعابي غائباً تماماً عند العديد من الحيوانات. ويفرز الليباز اللساني (Lingual Lipase) من السطح الظهري للسان (غدد إبنر Ebner)، لكن تشير الاستقصاءات إلى أنه ليس لهذا الإنزيم أهمية عند الإنسان بالمقارنة مع الجرذ أو الفأر، حيث يكون فيها الليباز قبل العفجي الوحيد.

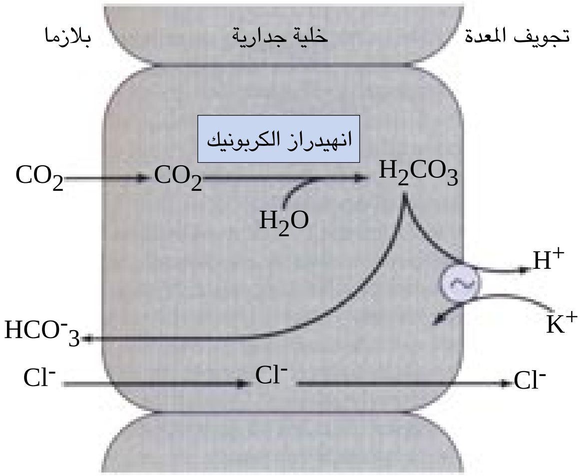
يبدأ هضم البروتين في المعدة:

يعرف الإفراز المعدي بالعصارة المعدية (Gastric Juice). وهو سائل رائق أصفر شاحب من الحمض HCl 0.2-5 ٪ له pH نحو 1.0 ويكون حوالي 97-99٪ من العصارة المعدية من الماء. ويتألف الجزء الباقي من الميوسين وأملاح غير عضوية والإنزيمات الهاضمة (الببسين والرينين) والليباز.

يغير حمض الهيدروكلوريك (كلور الماء) طبيعة البروتين ويقتل الجراثيم:

إن مصدر الحمض HCl المعدي هو الخلايا الجدارية (Parietal Cells)، وهو ينشأ تبعاً للتفاعلات المبينة في (الشكل 55-1) وتكون العملية مشابهة لعملية انزياح الكلور الموصوفة بالنسبة لكرية الدم الحمراء. وهناك تماثل أيضاً في الآليات النبيبية الكلوية لإفراز H^+ ، حيث أن مصدر H^+ هو أيضاً الأنهيدراز الكربونية التي تحفز تشكيل H_2CO_3 من H_2O و CO_2. وغالباً ما ينتج البول القلوي بعد تناول وجبة (شديدة القلوية)، كنتيجة لتشكل البيكربونات في عملية إفراز حمض كلور الماء. ويعد إفراز H^+ إلى اللمعة عملية نشيطة تحرض من قبل H^+-K^+ ATPase المتوضع في الغشاء، والذي هو خلافاً لـ Na^+- K^+ ATPase غير حساس للواباين. وتحوي الخلايا الجدارية عدداً كبيراً من المتقدرات الضرورية لتوليد الـ ATP المستخدم لتفعيل H^+- K^+ ATPase. ويمر HCO_3^- إلى البلازما بالتبادل مع Cl^-، الذي يتقارن بإفراز H^+ إلى التجويف. وتفرز الخلايا الجدارية أيضاً العامل الداخلي (داخلي المنشأ) (Intrinsic Factor)، وهو بروتين سكري يسهل امتصاص الڤيتامين B_{12} من اللفائفي.

ونتيجة للتماس مع الحمض HCl المعدي، تتغير طبيعة البروتينات، أي تزول البنية الثالثية للبروتين كنتيجة لتخرب الروابط الهيدروجينية. ويسمح هذا للسلسلة متعددة الببتيد بالانبساط، مما يجعلها أكثر عرضة لأفعال الإنزيمات الحالّة للبروتين (إنزيمات البروتياز). كما أن للباهاء pH المنخفض تأثيراً مخرباً لمعظم الكائنات الدقيقة التي تدخل السبيل المعدي المعوي.



الشكل 55-1 : إنتاج حمض الهيدروكلوريك المعدي. (~, H^+-K^+ ATPase)

يبدأ الببسين هضم البروتين:

هذه هي الوظيفة الهضمية الرئيسية للمعدة. وينتج الببسين في الخلايا الرئيسية بشكل زيموجين (Zymogen) (مولد الإنزيم) غير نشيط، هو مولد الببسين. ويجري تنشيطه بفعل الـ H^+، الذي يشطر متعدد الببتيد الواقي ليكشف عن الببسين النشيط؛ وبفعل الببسين بحد ذاته الذي ينشِّط بسرعة جزيئات أخرى من مولد الببسين (تحفيز ذاتي). ويشطر الببسين البروتين المتمسخ إلى مشتقات كبيرة متعددة الببتيد. وهو يعد ببتيداً داخلياً (Endopeptidase) لأنه يحلمه الروابط

الببتيدية داخل البنية الأساسية لمتعدد الببتيد مفضلاً ذلك على الروابط المجاورة للثمالات الأمينية أو الكربوكسيلية النهائية، التي تكون نموذجية لإنزيمات الببتيداز الخارجية. وهي نوعية للروابط الببتيدية المتشكلة عن طريق الأحماض الأمينية العطرية (كالتيروزين) أو الأحماض الأمينية ثنائية الكربوكسيل (كالجلوتامات).

يخثر الرينين (الكيموسين والرينيت) الحليب:

إن الرينين مهم في العمليات الهضمية عند الرضع لأنه يمنع المرور السريع للحليب من المعدة. ويقوم الرينين، بوجود الكالسيوم بتغيير كازين الحليب بشكل غير عكسي إلى الباراكازين (Paracasein)، الذي يعمل عليه الببسين بعد ذلك. وقد أشارت التقارير إلى أن الرينين يكون غائباً من معدة البالغين. وهو يستخدم في صنع الجبن (الرينيت Rennet).

تتابع إنزيمات الليباز هضم الجليسرولات ثلاثية الأسيل:

إن حرارة المعدة مهمة في تمييع الشحميات الغذائية، ويجري الاستحلاب بمساعدة التقلصات التمعجية. وتفرز المعدة ليبازاً معدياً والذي يكون عند الإنسان الليباز قبل العفجي الرئيسي. وتبدأ الليبازات اللسانية والمعدية هضم الشحميات بحلمهة الجليسرولات ثلاثية الأسيل الحاوية أحماضاً دهنية قصيرة ـ ومتوسطة السلسلة، وعموماً طويلة السلسلة غير مشبعة، وذلك لتشكيل أحماض دهنية حرة بشكل رئيسي و 1 و 2 ثنائي أسيل الجليسرول، وتكون الرابطة الإسترية sn-3 هي المقر الأولي للحلمهة. وتتخرب الإنزيمات في الباهاء (pH) منخفضة لكنها تكون نشيطة بعد الإطعام بسبب الفعل الدارئ للبروتينات الغذائية في المعدة. وتكون الباهاء (pH) المثلى واسعة، فهي تمتد من 3.0 إلى 6.0 تقريباً. ويبدو أن الليبازات قبل العفجية تكون مهمة على نحو خاص خلال مرحلة الولدان حيث قد تكون فعالية الليباز البنكرياسي منخفضة ويكون من الضروري هضم دهون الحليب. وبسبب زمن الاحتباس البالغ من 2-4 ساعات في المعدة، فإنه يمكن أن يهضم نحو 30 ٪ من ثلاثي أسيل الجليسرول الغذائي في هذا الوقت ومعظمه خلال الساعة الأولى.

ويحوي دهن الحليب أحماضاً دهنية قصيرة ومتوسطة السلسلة، تميل إلى أن تؤستر في الموضع sn-3. لذلك يبدو أن دهن الحليب يكون ركيزة خصوصية جيدة لهذا الإنزيم. وتمتص الأحماض الدهنية قصيرة ومتوسطة السلسلة الكارهة للماء المتحررة عن طريق جدار المعدة، وتدخل الوريد البابي، في حين تذوب الأحماض الدهنية ذات السلسلة الأطول في القطيرات الدهنية، وتمر إلى الإثنا عشري. ويشير تحليل cDNA الليباز اللساني عند الجرذ، والليباز المعدي عند الإنسان، إلى وجود تماثل مقداره 78 ٪ في تسلسل الأحماض الأمينية بين هذين الإنزيمين.

يستمر الهضم في الأمعاء:

تدخل محتويات المعدة، أو الكيموس (Chyme)، بشكل متقطع خلال الهضم إلى الإثنا عشري عبر الصمام البوابي. ويقوم المحتوى القلوي للمفرزات البنكرياسة والصفراوية بتعديل حومضة الكيموس، ويغير الباهاء (pH) هذه المادة إلى الجانب القلوي؛ ويكون هذا الانزياح في الباهاء (pH) ضرورياً لفعالية الإنزيمات الموجودة في العصارة البنكرياسة والمعوية، ولكنها تثبط الفعل الإضافي للببسين.

تقوم الصفراء باستحلاب ومعادلة وإفراغ الكوليسترول والأصبغة الصفراوية:

يلعب الكبد بالإضافة إلى الوظائف العديدة في الاستقلاب المتوسط دوراً مهماً في الهضم عن طريق إنتاج الصفراء. وتقوم المرارة باختزان الصفراء المنتجة من قبل الكبد بين الوجبات. وتتقلص المرارة خلال الهضم، فتؤمن بذلك الصفراء بسرعة إلى الإثنا عشري عن طريق القناة الصفراوية المشتركة. وتختلط المفرزات البنكرياسة مع الصفراء، لأنها تفرغ في القناة المشتركة قبل دخولها للإثنا عشري بوقت قصير.

أ – تركيب الصفراء: يختلف تركيب الصفراء الكبدية عن تركيب الصفراء المرارية. كما هو واضح من (الجدول 55-1) تكون الأخيرة أكثر تركيزاً.

	الصفراء الكبدية (حال إفرازها)		صفراء المرارة
	٪ من كامل الصفراء	٪ من كامل الجوامد	٪ من كامل الصفراء
الماء	97.00	...	85.92
الجوامد	2.52	…	14.08
الأحماض الصفراوية	1.93	36.9	9.14
الأصبغة والميوسين	0.53	21.3	2.98
الكوليسترول	0.06	2.4	0.26
أحماض دهنية مؤسترة وغبر مؤسترة	0.14	5.6	0.32
أملاح لا عضوية	0.84	33.3	0.65
الثقل النوعي	1.01	...	1.04
PH	7.3-7.1	...	7.7-6.9

الجدول 55-1 : تركيب الصفراء الكبدية والمرارية.

ب – خصائص الصفراء:

1 – *الاستحلاب (Emulsification)*: تتمتع الأملاح الصفراوية بقدرة كبيرة على خفض التوتر السطحي. وهذا يمكنها من استحلاب الدهون في الأمعاء، وإذابة الأحماض الدهنية والصوابين غير الذوابة في الماء، كما أن وجود الصفراء في الأمعاء هو مساعد مهم لإنجاز هضم الدهون وامتصاصها بالإضافة لامتصاص الڤيتامينات الذوَّابة في الدهن A ، D، E، K. وعندما يختل هضم الدهون فإنه

يضعف أيضاً امتصاص باقي المواد الغذائية لأن الدهون تغلف جزيئات الطعام، وتمنع الإنزيمات من مهاجمتها. وفي هذه الظروف، تسبب فعالية الجراثيم المعوية حدوث تفسخ كبير وإنتاج الغازات.

2 – *معادلة الحمض:* بالإضافة إلى وظيفتها في الاستحلاب، تقوم الصفراء، التي تملك باهاء (pH) أعلى من 7 بقليل، بمعادلة الكيموس الحمضي من المعدة، وتجهِّزه للهضم في الأمعاء.

3 – *الإفراغ:* تعد الصفراء حاملاً مهماً لإفراغ الأحماض الصفراوية والكوليسترول، لكنها تزيل أيضاً العديد من الأدوية والسموم والأصبغة الصفراوية، ومواد لا عضوية متنوعة كالنحاس والزنك والزئبق. وقد نوقش تشكل الأصبغة الصفراوية من الهيموجلوبين في (الفصل 34).

يحوي الإفراز البنكرياسي إنزيمات لمهاجمة كافة المواد الغذائية الرئيسية:

الإفراز البنكرياس سائل مائي غير لزج يشبه اللعاب في محتواه من الماء ويحوي بعض البروتينات ومركبات لا عضوية وغير عضوية أخرى بشكل رئيسي Na^+ وK^+ و HCO^-_3 و Cl^- لكن توجد أيضاً كميات قليلة من : Ca^{2+} و Zn^{2+} و HPO_4^{2-} و SO_4^{2-} ويكون pH الإفراز البنكرياس قلوياً بشكل مميز 7.5-8.0 أو أكثر.

يوجد العديد من الإنزيمات في الإفراز البنكرياسي، حيث يفرز بعضها على شكل مولدات إنزيمية.

إن التربسين (Trypsin) والكيموتربسين (Chymotrypsin) والإيلاستاز (Elastase) إنزيمات ببتيداز داخلية. ويعود فعل الإفراز البنكرياسي الحال للبروتين إلى إنزيمات الببتيداز الداخلية الثلاث: التربسين والكيموتربسين والإيلاستاز، التي تهاجم البروتينات ومتعددات الببتيد المتحررة من المعدة لتعطي كلا من متعددات الببتيد أو الببتيدات أو كليهما معاً. ويكون التربسين نوعياً للروابط الببتيدية في الأحماض الأمينية الأساسية، والكيموتربسين نوعياً للروابط الببتيدية المحتوية

ثمالات أحماض أمينية غير مشحونة، كالأحماض الأمينية العطرية. أما الإيلاستاز على الرغم من تسميته فإنه يملك نوعية واسعة نوعاً ما في مهاجمة الروابط المجاورة لثمالات أحماض أمينية صغيرة، مثل الجليسين والألانين والسيرين. وتفرز جميع هذه الإنزيمات الثلاثة بشكل مولدات إنزيمية. ويعود تنشيط مولد التربسين إلى إنزيم آخر حال للبروتين هو الإنتروببتيداز (Enteropeptidase) (الإنتروكيناز، الببتيداز المعوي) الذي تفرزه مخاطية الأمعاء. ويحلمه هذا الإنزيم الرابطة الببتيدية في ليسين مولد الإنزيم، محرراً متعدد ببتيد صغير يسمح للجزيء بالانبساط بشكل التربسين النشيط. وحالما يتشكل التربسين، فإنه يهاجم ليس فقط الجزيئات الإضافية من مولد التربسين بل وأيضاً مولدات إنزيمية أخرى في الإفراز البنكرياسي هي مولد الكيموتربسين وطليعة الإيلاستاز وطليعة الكربوكسي ببتيداز، محررة الكيموتربسين والإيلاستاز والكربوكسي ببتيداز على الترتيب.

يعد الكربوكسي ببتيداز إنزيم ببتيداز خارجي (Exopeptidase) وينجز الهجوم الإضافي على متعددات الببتيد الناتجة بفعل إنزيمات الببتيداز الداخلية بوساطة الببتيداز الخارجية الكربوكسي ببتيداز، التي تهاجم الرابطة الببتيدية، بالنهاية الكربوكسيلية، فتتحرر أحماض أمينية مفردة.

يهاجم الأميلاز النشا والجليكوجين. ينجم فعل الإفراز البنكرياسي الذي يشطر النشا عن الأميلاز $-\alpha$ البنكرياسي. وهو يشبه في الفعل الأميلاز اللعابي الذي يحلمه النشا والجليكوجين إلى المالتوز والمالتوتريوز (ثلاث ثمالات α- جلوكوز مرتبطة بروابط $\alpha 1 \leftarrow 4$)، ومزيج من قليلات السكريد المتفرعة ($1 \leftarrow 6$) (دكسترينات حدية $-\alpha$) وقليلات سكريد غير متفرعة، وبعض الجلوكوز.

يهاجم الليباز الرابطة الإسترية الأولية في الجليسرولات ثلاثية الأسيل. ويعمل الليباز البنكرياسي على السطح الفاصل بين الماء والزيت في القطيرات الشحمية المستحلبة بشكل جيد والمتشكلة بفعل الهياج الآلي في الأمعاء وبوجود نواتج فعالية الليباز اللساني والمعدي، أي الأملاح الصفراوية، ومساعد الليباز (الكوليباز Colipase) (بروتين يوجد في الإفراز البنكرياسي) والشحميات الفسفورية والفسفوليباز A_2 (الذي يوجد أيضاً في الإفراز البنكرياسي). ويسهل وجود

الأحماض الدهنية الحرة، الناتجة عن أفعال إنزيمات الليباز اللسانية والمعدية، الحلمهة بالليباز البنكرياسي، بخاصة لثلاثي أسيل جليسرول الحليب. ويفرز الفسفوليباز A_2 والكوليباز بأشكال طليعية، تتطلب تنشيطاً بوساطة الحلمهة التربسينية لروابط ببتيدية نوعية. ويتضمن تنشيط طليعة الليباز إزالة ببتيد خماسي من النهاية الأمينية الطرفية. ويعمل هذا الببتيد الخماسي كإشارة للشبع التام بالشحميات وقد أطلق عليه تسمية الأنتروستاتين (Enterostatin) إلا أن حالته الفيزيولوجية ما تزال بحاجة للتأكيد. من جانب آخر، إن الـ Ca^{2+} ضروري لفعالية الفسفوليباز A_2. وتؤدي الحلمهة المحدودة للرابطة الإسترية في الموضع 2 من الشحم الفسفوري بوساطة الفسفوليباز A_2 (الشكل 26-6) إلى ارتباط الليباز بالسطح الفاصل للركيزة، وإلى معدل سريع لحلمهة ثلاثي أسيل الجليسرول. ومن الواضح أن الليباز البنكرياسي يتثبط فعلياً بالأملاح الصفراوية. وتكون وظيفة الكوليباز هي التغلب على هذا التثبيط بالارتباط بنسبة مولية 1:1 مع الليباز مع الارتباط أيضاً بالسطح الفاصل لثلاثي أسيل الجليسرول المغطى بالأملاح الصفراوية. وبهذا الشكل فهو يربط الليباز بركيزته ثلاثي أسيل الجليسرول. وتنتج الحلمهة الكاملة لثلاثي أسيل الجليسرول كلاً من الجليسرول والأحماض الدهنية إلا أنه تجري حلمهة الحمضين الدهنيين الثاني والثالث من الجليسرولات ثلاثية الأسيل بصعوبة متزايدة. ويكون الليباز البنكرياسي نوعياً بالفعل لحلمهة الروابط الأسترية الأولية، أي بالموضعين 1 و 3 من الجليسرولات ثلاثية الأسيل. وخلال هضم الدهون، يحوي الطور المائي أو طور المذيلات، مزيجاً من مذيلات شبيهة بالقرص وجسيمات شحمية (Liposomes) من الأملاح الصفراوية المشبعة بنواتج تحلل الشحميات (الشكل 16-29).

إن وجود الليباز المنشط بالأملاح الصفراوية في حليب الإنسان هو عامل إضافي لضمان الهضم التام لدهون الحليب عندما يصبح على تماس مع الأملاح الصفراوية في الإثنا عشري. وله أهمية خاصة عند الرضع الخدج الذين لا يعمل لديهم الإفراز البنكرياسي بشكل كامل، وله نوعية واسعة لركائز ثلاثي أسيل الجليسرول. ولقد تبين مؤخراً بأنه مماثل لليباز المنشط بالأملاح الصفراوية البنكرياسية وأن له أيضاً نوعية واسعة.

بسبب صعوبة حلمهة الرابطة الإسترية الثانوية في ثلاثي أسيل الجليسرول بوساطة الليباز البنكرياس، فإن هضم ثلاثي أسيل الجليسرول يتواصل بإزالة الحمض الدهني الطرفي لإنتاج 2– أحادي أسيل الجليسرول. وبما أن هذا الحمض الدهني الأخير مرتبط بوساطة رابطة إسترية ثانوية، فإن إزالته تحتاج للمصاوغة إلى الرابطة الإسترية الأولية لإنجاز الحلمهة التامة. وهي عملية بطيئة نسبياً، وتكون بالنتيجة الجليسرولات أحادية الأسيل –2 هي النواتج النهائية الرئيسية لهضم ثلاثي أسيل الجليسرول، ويتحطم أقل من ربع ثلاثي أسيل الجليسرول المهضوم بشكل تام إلى جليسرول وأحماض دهنية (الشكل 55-2).

تتحطم إسترات الكولستريل بفعل هيدرولاز نوعي. ففي الشروط داخل تجويف الأمعاء، تحفز هيدرولازإستر الكولستريل (إستراز الكوليسترول) حلمهة إسترات الكولستريل، التي تمتص بعد ذلك من الأمعاء بشكل حر غير مؤستر.

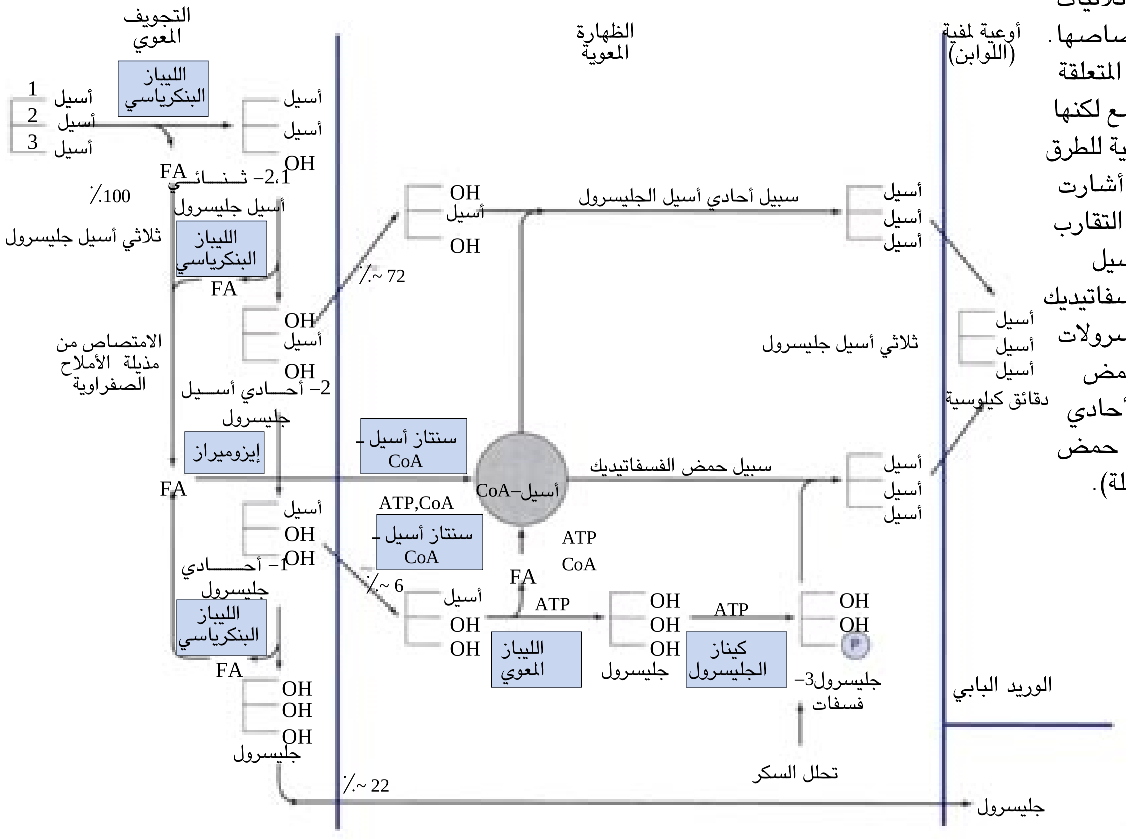
يكون الريبونوكلياز (RNase) وديوكسي الريبونوكلياز (DNase) هما المسؤولين عن هضم الأحماض النووية الغذائية (الفصلان 38 و 39).

تحلمه الفسفوليباز A2 الرابطة الإسترية في الموضع 2 من الشحميات الفسفورية الجليسرولية ذات المنشأ الصفراوي والغذائي لشكيل ليزو الشحميات الفسفورية، التي، لأنها من المنظفات، تساعد على استحلاب الشحميات وهضمها.

تستكمل الإفرازات المعوية عملية الهضم:

تحوي العصارة المعوية التي تفرز من غدد برونر (Brunner) وليبركون (Liberkühn) إنزيمات هاضمة، تضم ما يلي:

ـ الأمينوببتيداز (Aminopeptidase)، وهو ببتيداز خارجي يهاجم الروابط الببتيدية المجاورة للنهاية الأمينية بالأحماض الأمينية في عديدات وقليلات الببتيد؛ وهناك الإنزيمات ثنائية الببتيداز (Dipeptidases) ذات النوعية المتنوعة، فبعضها يمكن أن يكون داخل الظهارة المعوية. وتستكمل هذه الأخيرة هضم الببتيدات الثنائية إلى أحماض أمينية حرة.



الشكل 55-2 : هضم ثلاثيات أسيل الجليسرول وامتصاصها. قد تتفاوت القيم المبيّنة المتعلقة بنسبة القبط بشكل واسع لكنها تشير إلى الأهمية النسبية للطرق الثلاث المعروضة. وقد أشارت الدراسات الأخيرة إلى التقارب بين سبل أحادي أسيل الجليسرول وحمض الفسفاتيديك الناجم عن حلمهة جليسرولات الأسيل في سبيل حمض الفسفاتيديك إلى 2– أحادي أسيل جليسرول. (FA: حمض دهني طويل السلسلة).

ـ وهناك الإنزيمات ثنائية السكريداز وقليل السكريداز، مثل α – جلوكوزيداز (المالتاز)، الذي ينزع ثمالات الجلوكوز المفردة من قليلات السكريد وثنائيات السكريد ذات الارتباط α (1→ 4)، إبتداءً من النهايات غير المرجعة، ومعقد السكراز – أيزومالتاز، الذي يوجد كطليعة إنزيمية على سلسلة عديدة الببتيد، لكن كإنزيمات نشيطة على عديدات ببتيدية مستقلة وهي تحلمه السكروز والروابط 1 → 6 في الدكسترينات الحدية -α؛ وهناك -β جليكوزيداز (اللاكتاز) لنزع الجالاكتوز من اللاكتوز، لكنه يهاجم أيضاً السلوبيوز والجليكوزيدات ـ β الاخرى. بالإضافة إلى أن له مقراً تحفيزياً يشطر السيراميدات الجليكوزيلية؛ والتريهالاز (Trehalse)لحلمهة التريهالوز. ويبقى العديد من إنزيمات الهيدرولاز هذه مرتبطاً بالحافة الفرشاتية (الشبيهة بالفرشاة) للخلايا المعوية في حين تبقى المناطق التحفيزية حرة في اللمعة للتفاعل مع الركيزة.

وهناك الفسفاتاز (Phosphatase)، الذي ينزع الفسفات من بعض المركبات الفسفاتية العضوية كفسفات الهكسوز والجليسروفسفات والنوكليوتيدات المشتقة من الغذاء ومن هضم الأحماض النووية بإنزيمات النوكلياز.

وتشطر إنزيمات عديدة النوكليوتيداز، الأحماض النووية إلى نوكليوتيدات. تحفز إنزيمات النوكليوزيداز (إنزيمات فسفوريلاز النوكليوزيد) فسرلة النوكليوزيدات لتعطي الأساس النتروجيني الحر بالإضافة للبنتوز فسفات.

الفسفوليباز (Phospholipase) الذي يهاجم الشحميات الفسفورية لينتج الجليسرول والأحماض الدهنية وحمض الفسفور وأسساً كالكولين.

يتم تمثل النواتج الرئيسية للهضم:

إن النتيجة النهائية لفعل الإنزيمات الهاضمة هي اختزال المواد الغذائية في الغذاء إلى أشكال يمكن امتصاصها وتمثلها. وهذه النواتج النهائية للهضم هي: من الكربوهيدرات؛ أحاديات السكريد (الجلوكوز بشكل أساسي)؛ ومن البروتينات؛ الأحماض الأمينية، ومن ثلاثي أسيل الجليسرول؛ الأحماض الدهنية والجليسرول وأحاديات أسيل الجليسرول، ومن الأحماض النووية؛ الأسس النوكليوتيدية والنوكليوزيدات والبنتوزات.

تتألف الألياف الغذائية من عديدات السكريد في جدران الخلية النباتية والليجنين الغذائي، التي لا يمكن هضمها بوساطة إنزيمات الثدييات وهي تشكل الحجم الكبير لما يتبقى عن عملية الهضم. وتنجز الألياف وظيفة مهمة في إضافة حجم كبير للغذاء، وقد نوقش ذلك في الفصل السابق. ويلخص (الجدول 55-2) العمليات الرئيسية في الهضم.

الجدول 55-2: ملخص العمليات الهضمية.

مصدر الإفراز ومنبه الإفراز	الإنزيم	طريقة التنشيط والشروط المثلى للفاعلية	الركيزة	النواتج النهائية للفعل
الغدد اللعابية: تفرز اللعاب كاستجابة انعكاسية لوجود الطعام في جوف الفم	الأميلاز اللعابي	يكون الكلور ضرورياً pH (6.6-6.8)	النشا الجليكوجين	المالتوز مع 6;1 جلوكوزيدات (قليلات السكريد) مع المالتوتريوز
الغدد اللسانية	الليباز اللساني	يتراوح الباهاء (pH) بين 7.5-2.0 والأفضل هو 6.0-3.0	الرابطة الأسترية الأولية عند sn-3 من الجليسرولات ثلاثية الأسيل	أحماض دهنية مع 1 و 2 جليسرولات ثنائية الأسيل
الغدد المعدية: تفرز الخلايا الرئيسة والخلايا الجدارية العصارة المعدية استجابة لتنبيه منعكس ولفعل الجاسترين	البيبسين A (القاع) البيبسين B (البواب)	ينقلب مولد البيبسين إلى بيبسين نشيط بفعل HCl، pH (1.0-2.0)	البروتين	ببتيدات
	الليباز المعدي	كما هو بالنسبة لليباز اللساني	كما هو بالنسبة لليباز اللساني	كما هو بالنسبة لليباز اللساني
	الرينين	الكالسيوم ضروري للفعالية pH (4.0)	كازين الحليب	تخثر الحليب
البنكرياس: إن حضور الكيموس الحمضي من المعدة ينشط الإثنا عشري على إنتاج: 1-السكريتين الذي ينبه هرمونياً تدفق العصارة البنكرياسة. 2-الكولي سيستوكينين الذي ينبه إنتاج الإنزيمات	التربسين	يتحول مولد التربسين إلى التربسين النشيط بوساطة إنتروببتيداز الأمعاء عند pH (5.2-6.0). يجري تحفيز ذاتي عند pH (7.9)	البروتين البيبتيدات	متعددات الببتيد ببتيدات ثنائية

مصدر الإفراز ومنبه الإفراز	الإنزيم	طريقة التنشيط والشروط المثلى للفاعلية	الركيزة	النواتج النهائية للفعل
(تابع) البنكرياس	الكيموتربسين	يُفرز بشكل مولد الكيموتربسين ويتحول إلى شكل نشيط بفعل التربسين. pH(8.0)	البروتين الببتيدات	كما في التربسين أكثر قوة لتخثر الحليب
	الإيلاستاز	تفرز بشكل طليعة الإيلاستاز، وتتحول إلى الشكل النشيط بوساطة التربسين.	البروتين الببتيدات	متعددات الببتيد ببتيدات ثنائية
	الكربوكسي ببتيداز	تفرز على شكل طليعة الكربوكسي ببتيداز، وتفعّل بوساطة التربسين	متعددات ببتيدية عند النهاية الكربوكسيلية الحرة من السلسلة	ببتيدات صغيرة أحماض أمينية حرة
	الأميلاز البنكرياسي	pH (7.1)	النشا الجليكوجين	المالتوز مع 6:1–جلوكوزيدات (قليلات سكريد) مع المالتوتريوز
	الليباز	تنشيط مشترك بوساطة الأملاح الصفراوية والشحميات الفسفورية والكوليباز pH (8.0)	روابط إسترية أولية لثلاثي أسيل الجليسرول	أحماض دهنية، 2–أحاديات أسيل الجليسرول، الجليسرول
	الليباز(*) المنشط بالأملاح الصفراوية (يوجد الإنزيم ذاته في الحليب)	يُنشط بالأملاح الصفراوية	ثلاثي أسيل جليسرول، إسترات، مثل إسترات الكولستريل وإسترات الڤيتامينات؛ ليزو الشحميات الفسفورية	أحماض دهنية حرة، ڤيتامينات، كولسترول
	الريبونوكلياز		الحمض الريبي النووي	نوكليوتيدات
	ديوكسي الريبونوكلياز		أحماض ريبية نووية منزوعة الأكسجين	نوكليوتيدات

مصدر الإفراز ومنبه الإفراز	الإنزيم	طريقة التنشيط والشروط المثلى للفاعلية	الركيزة	النواتج النهائية للفعل
(تابع) البنكرياس	هيدرولاز(*) إستر الكوليسترول	ينشط بالأملاح الصفراوية	إسترات الكولسترول	كوليسترول حر مع أحماض دهنية
	الفسفوليباز A_2	يفرز بشكل طليعة إنزيم، يُنشط بالتربسين و Ca^{2+}	الشحميات الفسفورية	أحماض دهنية، ليزو الشحميات الفسفورية
الكبد والمرارة: يقوم الكولي سيستوكينين، وهو هرمون من المخاطية المعوية – ويحتمل أيضاً الجاسترين والسكريتين بتنبيه المرارة وإفراز الصفراء من قبل الكبد	(الأملاح الصفراوية، والقلويات)		الدهون – والكيموس الحمضي المتعادل أيضاً	معقدات أحماض دهنية – أملاح صفراوية ومذيلات دهون – أملاح صفراوية متعادلة مستحلبة جيداً وجسيمات شحمية
المعى الدقيق: إفرازات من غدد برونر في الإثنا عشري وغدد ليبركون.	الأمينوببتيداز		عديدات الببتيد عند النهاية الأمينية الحرة من السلسلة	ببتيدات صغيرة أحماض أمينية حرة
	الإنزيمات ثنائية الببتيداز		الببتيدات الثنائية	أحماض أمينية
	السُكراز	pH = 7.0-5.0	السكروز	فركتوز، جلوكوز
	المالتاز	pH = 6.2 - 5.8	المالتوز	جلوكوز
	اللاكتاز	pH = 6.0 - 5.4	اللاكتوز	جلوكوز، جالاكتوز
	التريهالاز		التريهالوز	جلوكوز
	الفسفاتاز	pH= 8.6	الفسفات العضوية	فسفات حرة
	الإيزومالتاز أو 6:1 جلوكوزيداز		الجلوكوزيدات 6:1	جلوكوز
	متعددة النوكليوتيداز		الحمض النووي	النوكليوتيدات
	إنزيمات النوكليوزيداز (فسفوريلاز النوكليوزيد)		نوكليوزيدات البيورين أو البيريميدين	أسس البيورين أو البيريميدين، البنتوزفسفات

يؤدي الامتصاص من السبيل المعدي المعوي إلى مرور الغذيات للوريد البابي الكبدي أو للأوعية اللمفية:

يجري امتصاص قليل من المعدة باستثناء الأحماض الدهنية قصيرة ومتوسطة السلسلة والإيثانول.

إن المعى الدقيق هو عضو الامتصاص الرئيسي. حيث يمتص 90٪ تقريباً من المواد الغذائية المهضومة خلال المرور عبر المعى الدقيق، ويمتص الماء في الوقت نفسه. كما تمتص كمية كبيرة من الماء بعد مرور بقايا المواد الغذائية إلى المعى الغليظ بحيث أن المكونات التي كانت سائلة في المعى الدقيق، تصبح تدريجياً جامدة أكثر في القولون.

يوجد سبيلان لنقل المواد الممتصة بوساطة الأمعاء هما: الجملة البابية الكبدية، التي تقود مباشرة إلى الكبد ناقلة الغذيات الذوابة في الماء، والأوعية اللمفية، التي تقود إلى مجرى الدم عن طريق القناة الصدرية وتنقل الغذيات الذوابة في الشحم.

يتمتص نواتج هضم الكربوهيدرات من الصائم إلى دم الجملة الوريدية البابية بشكل أحاديات سكريد، بشكل رئيسي كهكسوز (جلوكوز وفركتوز ومانوز وجالاكتوز)، وبشكل سكاكر خماسية (ريبوز). ويطرأ على كل من قليلات السكريد (مركبات مشتقة من النشويات تعطي بالحلمهة من ثلاث إلى عشر وحدات من أحاديات السكريد)، وثنائيات السكريد حلمهة بإنزيمات مناسبة آتية من السطوح المخاطية للمعى الدقيق، والتي قد تتضمن الأميلاز البنكرياسي الممتز إلى المخاطية. وتوجد فعالية قليلة لثنائي السكريداز الحر في التجويف المعوي. حيث تترافق معظم الفعالية مع عقد صغيرة على الحافة الفرشاتية للخلية الظهارية المعوية.

توجد آليتان مسؤولتان عن امتصاص أحاديات السكريد: النقل الفعال (Active Transport) بعكس مدروج التركيز. والنقل الميسر (Facilitative Transport) باتجاه مدروج التركيز. وفيما يلي المظاهر الجزيئية التي يبدو أنها ضرورية للنقل الفعال، والتي توجد في حالة الجلوكوز والجالاكتوز: يجب أن يكون للـ OH على الكربون 2 الهيئة نفسها في الجلوكوز، ويجب أن توجد حلقة البيرانوز، وأن توجد مجموعة

ميثيل أو مجموعة بديلة ميثيلية على الكربون 5. ويمتص الفركتوز بشكل أبطأ من الجلوكوز والجالاكتوز. ويبدو أن امتصاصه يتواصل بالانتشار مع مدروج التركيز عن طريق ناقل ميسر معتمد على الصوديوم (GLUT5). ويمكن استخدام الناقل نفسه أيضاً من قبل الجلوكوز والجالاكتوز فيما إذا كان مدرج التركيز ملائماً. ويوجد في الحالة السوية القليل من الفركتوز أو الجالاكتوز في الدم فيما عدا ذلك المشتق من الغذاء.

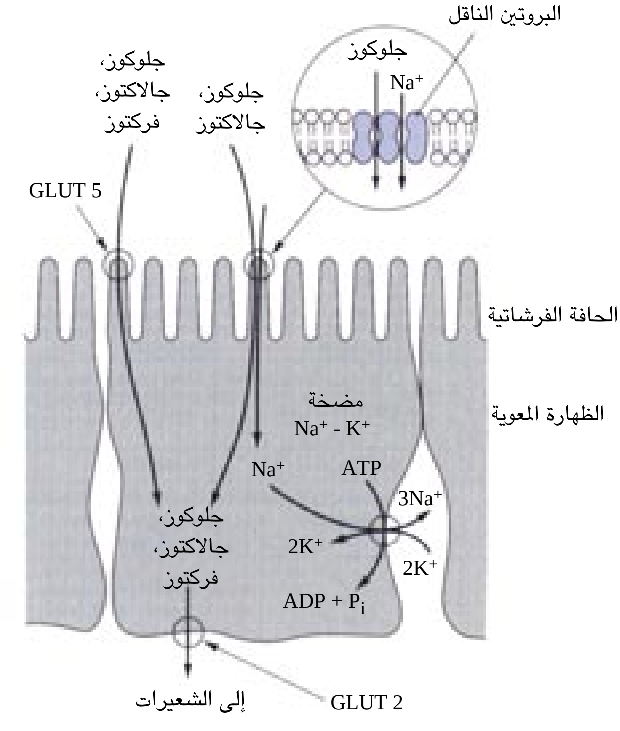
يستمد الامتصاص الفعال للجلوكوز القدرة من مضخة الصوديوم:

تحوي الحافة الفرشاتية للخلية المعوية جملاً عديدة من النواقل، بعضها مشابه جداً لتلك التي توجد في أغشية الحافة الفرشاتية الكلوية، التي تختص في قبط الأحماض الأمينية والسكاكر المختلفة. ويربط ناقلُ الجلوكوز المعتمد على الصوديوم (SLGT1) كلاً من الجلوكوز و Na^+ عند مواقع منفصلة وينقل كلاهما خلال الغشاء البلازمي للخلية المعوية. ويعتقد أنه يتحرر كل من الجلوكوز و Na^+ إلى العصارة الخلوية، مما يسمح للناقل بأخذ «حمولة» أكثر. وينقل Na^+ باتجاه مدروج تركيزه مفسحاً المجال للناقل في الوقت ذاته بحمل الجلوكوز عكس مدروج تركيزه. ويتم الحصول على الطاقة الحرة اللازمة لهذا النقل الفعال من حلمهة الـ ATP المرتبط بمضخة الصوديوم التي تقذف Na^+ من الخلية بالتبادل مع K^+ (الشكل 55-3).

ويتثبَّط النقل الفعال للجلوكوز بوساطة الواباين (Ouabain) (جليكوزيد قلبي)، وهو مثبط لمضخة الصوديوم؛ وكذلك بالفلوريزين (Phlorhizin)، وهو مثبط معروف لإعادة امتصاص الجلوكوز في النبيب الكلوي. ويوجد أيضاً ناقل غير معتمد على الصوديوم هو GLUT2، الذي يسهل نقل السكاكر لخارج الخلية.

تكون حلمهة عديدات السكريد وقليلات السكريد وثنائيات السكريد سريعة؛ لذلك تشبع بسرعة آليات امتصاص الجلوكوز والفركتوز. وهناك استثناء واضح هو حلمهة اللاكتوز، التي تتواصل بنصف معدل حلمهة السكروز فقط وهو المسؤول عن الحقيقة القائلة بأن هضم اللاكتوز لا يؤدي إلى إشباع آليات نقل الجلوكوز

والجالاكتوز. ويحدث التلاؤم مع زيادة الكربوهيدرات في الغذاء عن طريق ازدياد عدد النواقل في الحافة الفرشاتية.



الشكل 3-55 : نقل الجلوكوز والفركتوز والجالاكتوز عبر الظهارة المعوية. يقترن الناقل SGLT-1 مع مضخة $Na^+ - K^+$، مما يسمح للجلوكوز والجالاكتوز بأن ينتقلا عكس مدروجات تراكيزهما. ويسمح الناقل الميسر GLUT –5 غير المعتمد على Na^+ لكل من الفركتوز والجلوكوز والجالاكتوز بأن تنتقل مع مدروجات تراكيزها. ويتم خروج كافة السكاكر من الخلية عن طريق الناقل الميسر GLUT-2.

تمتص نواتج هضم الشحميات من مذيلات الأملاح الصفراوية:

تغادر كل من 2- أحاديات أسيل الجليسرول والأحماض الدهنية وكميات قليلة من 1- أحاديات أسيل الجليسرول الطور الزيتي للمستحلب الشحمي وتنتشر إلى المذيلات والجسيمات الشحمية المختلطة المؤلفة من الأملاح الصفراوية وفسفاتيديل الكولين والكوليسترول، التي تأتي من الصفراء (الشكل 55-4)، ونظراً لأن المذيلات ذوابة فهي تسمح بنقل نواتج الهضم خلال الوسط المائي في اللمعة المعوية إلى الحافة الفرشاتية للخلايا المخاطية، حيث تمتص إلى الظهارة المعوية. وتمر الأملاح الصفراوية إلى اللفائفي، حيث يمتص معظمها إلى الدوران الكبدي المعوي بوساطة عملية نقل فعال (الفصل 27). وتحلمه الشحميات الفوسفورية ذات المنشأ الغذائي والصفراوي (كفسفاتيديل الكولين) بالفسفوليباز A_2 من الإفراز البنكرياسي إلى أحماض دهنية وليزو الشحميات الفسفورية، التي تُمتص أيضاً من المذيلات. وتحلمه إسترات الكولستريل بوساطة هيدرولاز إسترات الكولستريل من العصارة البنكرياسية، ويمتص الكوليسترول الحر، مع معظم الكوليسترول الصفراوي، خلال الحافة الفرشاتية بعد نقله في المذيلات. ويتم في الحالة السوية امتصاص أكثر من 98٪ من الشحميات الغذائية.

تحلمه 1- أحاديات أسيل الجليسرول ضمن الجدار المعوي من جديد لتنتج جليسرولاً حراً وأحماضاً دهنية بوساطة ليباز معوي (هيدرولاز أستر جليسرول) متميز عن الليباز البنكرياسي. ويعاد تحويل 2- أحاديات أسيل الجليسرول إلى الجليسرولات ثلاثية الأسيل عن طريق سبيل أحادي أسيل الجليسرول (الشكل 55-2). ويتطلب استعمال الأحماض الدهنية لإعادة تخليق الجليسرولات ثلاثية الأسيل تحويلها أولاً إلى أسيل ـ CoA بوساطة سنتاز أسيل ـ CoA ويمكن أن تمتص الجليسرولات ثلاثية الأسيل قصيرة ومتوسطة السلسلة بحالتها هذه، ثم تتحلمه بوساطة هيدرولاز أستر الجليسرول. ويحظى هذا الإنزيم بأهمية أكبر عند المرضى الذي يعانون من عوز الليباز البنكرياسي والذين يجري إطعامهم بجليسرولات ثلاثية الأسيل متوسطة السلسلة.

من المحتمل أن يتتابع تخليق الجليسرولات ثلاثية الأسيل في المخاطية المعوية بأسلوب مشابه للذي يحدث في النسج الأخرى، كما هو موصوف في (الفصل 26). وتعاد أيضاً أسيَّلة (ضم الأسيل) ليزو الشحميات الفسفورية الممتصة إلى جانب الكثير من الكوليسترول الممتص، بأسيل CoA وذلك لإعادة توليد الشحميات الفسفورية وإسترات الكولستريل.

لا يعاد استعمال الجليسرول الحر المتحرر في تجويف الأمعاء بل يمر مباشرة الوريد البابي. إلا أنه يمكن للجليسرول المتحرر ضمن الخلايا المعوية أن يستعمل من جديد لتخليق ثلاثي أسيل الجليسرول بعد تنشيطه إلى جليسرول 3– فسفات بوساطة الـ ATP. وبهذا الشكل فإن جميع الأحماض الدهنية طويلة السلسلة الممتصة من قبل الخلايا المخاطية في جدار الأمعاء، يتم استعمالها لإعادة تشكيل جليسرولات الأسيل، بخاصة الجليسرولات ثلاثية الأسيل.

لا تنقل الجليسرولات ثلاثية الأسيل التي تم تخليقها في المخاطية المعوية، ولا بأية درجة، في دم الوريد البابي. وبالمقابل؛ يقوم الجزء الأكبر من الشحميات الممتصة بما في ذلك الشحميات الفسفورية وأسترات الكولستريل والكوليسترول والڤيتامينات الذوابة في الدهن، بتوليد الدقائق الكيلوسية التي تشكل سائلاً لبنياً، هو الكيلوس (Chyle)، الذي يجمع بالأوعية اللمفية في منطقة البطن، ويمر إلى الدم الجهازي عن طريق القناة الصدرية.

إن غالبية الأحماض الدهنية الممتصة، التي طولها أكثر من عشر ذرات كربون، بغض النظر عن الشكل الذي يتم فيه امتصاصها، توجد بشكل أحماض دهنية مؤسترة في لمف القناة الصدرية. أما الأحماض الدهنية ذات السلاسل الكربونية الأقصر من 10-12 كربوناً فهي تنقل في دم الوريد البابي بشكل أحماض دهنية غير مؤسترة (حرة). وأحد أسباب ذلك هو أن سنتاز أسيل ـ CoA، تكون نوعية للأحماض الدهنية التي تملك 12 ذرة كربون أو أكثر. وقد تمتص بعض الأحماض الدهنية قصيرة أو متوسطة السلسلة الموجودة في الجليسرولات ثلاثية الأسيل المختلطة بشكل 2– أحاديات أسيل الجليسرول وتدخل القناة الصدرية عن طريق سبيل أحادي أسيل الجليسرول.

لا يمتص أي من الستيرولات النباتية (الفيتوستيرولات) من الأمعاء باستثناء الإرجوستيرول المنشط (طليعة الڤيتامين D).

تمتص نواتج هضم البروتينات كأحماض أمينية فردية:

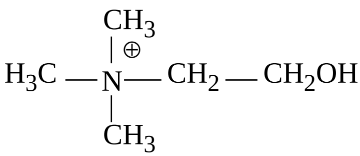
يجري في الظروف السوية، هضم البروتينات الغذائية بشكل كامل تقريباً إلى مقوِّماتها أي الأحماض الأمينية، ثم تمتص هذه النواتج النهائية لهضم البروتينات بشكل سريع من الأمعاء إلى الدم البابي. ومن المحتمل أن يجري استكمال بعض الحلمهة، كالببتيدات الثنائية، في الجدار المعوي.

ينقل المصاوغ L الطبيعي ــ وليس المصاوغ D ــ للحمض الأميني بشكل فعال عبر الأمعاء من الطبقة المخاطية إلى المصلية. وقد يسهم الڤيتامين B_6 (البيريدوكسال فسفات) في هذا النقل. ويكون هذا النقل الفعال للأحماض الأمينية ــ L معتمداً على الطاقة، حيث يستدل على ذلك من حقيقة مفادها أن 2، 4 ــ ثنائي نترو الفينول، وهو مفكك للاقتران في الفسفتة التأكسدية (الشكل 14-9) يثبِّط النقل. وتنقل الأحماض الأمينية عبر الحافة الفرشاتية بالعديد من الحوامل (النواقل)، حيث أن للعديد منها آليات معتمدة على Na^+، مشابهة لجملة نواقل الجلوكوز (الشكل 55-3). ومن بين الحوامل المعتمدة على Na^+، يوجد حوامل للأحماض الأمينية المتعادلة، وحامل للفينيل ألانين والميثيونين، وحامل نوعي للأحماض الأمينية كالبرولين وهيدروكسي البرولين. وقد تم تمييز حوامل غير معتمدة على Na^+ متخصصة في نقل الأحماض الأمينية المتعادلة والأليفة للشحم (مثل الفينيل ألانين واللوسين) أو لنقل الأحماض الأمينية الكاتيونية (أي المشحونة إيجابياً) (مثل الليسين). ويوجز (الجدول 55-3) أماكن الامتصاص المعوي لبعض الغذيات الشائعة.

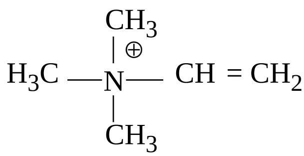
تسبب الجراثيم في المعى الغليظ التفسخ والتخمر:

يمتص معظم الطعام المهضوم من المعى الدقيق. وتمر البقية إلى المعى الغليظ. حيث يجري هنا امتصاص كبير للماء، ويصبح المحتوى المعوي شبه السائل بشكل

تدريجي أكثر صلابة. ويحدث خلال هذه الفترة نشاط جرثومي واضح. حيث تقوم الجراثيم، عن طريق التخمر والتفسخ بإنتاج غازات مختلفة مثل CO_2 والميثان والهيدروجين والنتروجين وسلفيد الهيدروجين، بالإضافة إلى أحماض الأسيتيك واللاكتيك والبروبيونيك والبوتيريك. وقد ينتج الكولين عن التفكيك الجرثومي لفسفاتيديل الكولين، بالإضافة للأمينات السامة القريبة مثل النيورين.

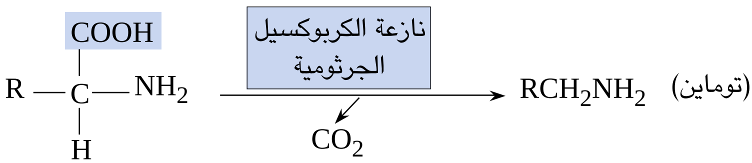


الكولين (Choline)



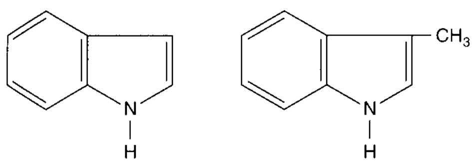
النيورين (Neurine)

يخضع العديد من الأحماض الأمينية لنزع الكربوكسيل كنتيجة لفعل الجراثيم المعوية لإنتاج أمينات سامة (التومايينات Ptomaines).



تنتج تفاعلات نزع الكربوكسيل هذه الكاداڤيرين من الليسين، والأجماتين من الأرجينين، والتيرامين من التيروزين، والبوتريسين من الأورنيثين، والهيستامين من الهيستيدين. حيث العديد من هذه الأمينات هي مواد موترة وعائية قوية.

يجتاز الحمض الأميني التربتوفان سلسلة من التفاعلات لتشكيل الإندول وميثيل إندول (السكاتول) وهما المادتان المسؤولتان بشكل خاص عن رائحة البراز.



إندول سكاتول

يخضع السيستيين، الحمض الأميني الذي يحوي الكبريت، لسلسلة من التحولات ليشكل المركبتانات مثل إيثيل وميثيل المِركبتان بالإضافة إلى H_2S.

$$CH_3{-}CH_2SH \qquad\qquad CH_3SH$$

إيثيل المركبتان　　　ميثيل المركبتان

$$CH_3SH \xrightarrow{[2H]} CH_4 + H_2S$$

ميثيل المركبتان　　　الميثان ووسلفيد الهيدروجين

المكان	الغذيات
الصائم	الجلوكوز وأحاديات السكريد الأخر
	بعض ثنائيات السكريد
	أحاديات أسيل الجليسرول
	الأحماض الدهنية، الجليسرول، الكولسترول
	الأحماض الأمينية، الببتيدات
	الڤيتامينات، الفولات
	الكهارل، الحديد، الكالسيوم، الماء
اللفائفي	الأحماض الصفراوية
	الڤيتامين B_{12}
	الكهارل
	الماء

الجدول 3-55 : أماكن امتصاص الغذيات.

إن المعى الغليظ هو مصدر لكميات كبيرة من الأمونيا، التي تنتج عن الفعالية الجرثومية في الركائز النتروجينية. وهي تمتص إلى الدوران البابي، لكن في الظروف الطبيعية تجري إزالتها بسرعة من الدم بوساطة الكبد. ويمكن أن تضطرب هذه الوظيفة في الكبد عند الإصابة بداء كبدي، وهي الحالة التي يرتفع فيها تركيز الأمونيا في الدم المحيطي إلى مستويات سامة. ويعتقد بأن الانسمام بالأمونيا قد يلعب دوراً في إحداث السبات الكبدي عند بعض المرضى.

وقد تبين أن إعطاء النيوميسين (Neomycin) فموياً يخفض كمية الأمونيا المنقولة من الأمعاء إلى الدم، وذلك بسبب فعل الدواء المضاد للجراثيم. وقد يسهم الإطعام بغذاء غني بالبروتين، للمرضى الذين يعانون من مرض كبدي متقدم أو عند وجود نزف معدي معوي عند مثل هؤلاء المرضى، في حدوث التسمم بالأمونيا. ويكون النيوميسين نافعاً أيضاً في مثل هذه الظروف.

إن الجراثيم المعوية مفيدة أيضاً:

يمكن أن يشكل النبيت الجرثومي المعوي نحو 25٪ من الوزن الجاف للبراز. وعند العواشب، التي يتألف غذاؤها بشكل كبير من السلولوز، فإن وجود الجراثيم في الأمعاء أو في الكرش أمر ضروري للهضم، لأنها تفكك عديدات السكريد وتجعلها متاحة للامتصاص. وبالإضافة إلى ذلك، فإن هذه الجراثيم المتعايشة تنجز تخليق الأحماض الأمينية الأساسية والڤيتامينات.

وعلى الرغم من أن النبيت الجرثومي المعوي عند الإنسان لا يحظى بالأهمية نفسها كما عند العواشب، إلا أنه تأتي بعض الفائدة التغذوية من الفعالية الجرثومية في تخليق ڤيتامينات معينة، بخاصة الڤيتامين K، وبعض أعضاء المركب B (كالبيوتين) التي تصبح متوافرة للجسم.

المظاهر الإكلينيكية:

يسبب ذوبان الكوليسترول المحدود في الصفراء تشكل الحصيات الصفراوية:

إن الكوليسترول الحر غير ذواب في الماء، وبالتالي فهو ينجبل في مذيلة الملح الصفراوي ـ الشحم الفسفوري (الشكل 16-29). وبالفعل فإن فسفاتيديل الكولين، وهو الشحم الفسفوري السائد في الصفراء، يكون بحد ذاته غير ذواب في الجمل المائية، لكن يمكن أن يذوب بوساطة الأملاح الصفراوية في المذيلات. وتكون الكميات الكبيرة من الكوليسترول الموجودة في صفراء الإنسان مذابة في هذه المذيلات المختلطة الذوابة في الماء، مما يسمح بنقل الكوليسترول في الصفراء عن طريق القناة الصفراوية إلى الأمعاء. إلا أن الذوبان الفعلي للكوليسترول في الصفراء يعتمد على الحصص النسبية لكل من الملح الصفراوي وفسفاتيديل الكولين والكوليسترول.

ويعتمد الذوبان أيضاً على المحتوى المائي في الصفراء. وهذا الأمر مهم بشكل خاص في الصفراء الكبدية المخففة.

تمكن ريدينجر (Redinger) وسمول (Small)، باستخدام المثلث متساوي الساقين (الشكل 55-4) من تحديد الذوبان الأعظمي للكوليسترول في صفراء مرارة الإنسان. ويلاحظ من العودة إلى الشكل بأن أية نقطة مثلثية تقع أعلى الخط ABC تمثل صفراء يكون الكوليسترول في تركيبها مشبعاً بشكل فائق أو مترسباً.

يعتقد بأنه في وقت ما في أثناء حياة مريض ما لديه حصيات صفراوية، تشكلت صفراء غير سوية أصبحت فائقة الإشباع بالكوليسترول. ومع مرور الوقت فإن عوامل متنوعة كالعدوى مثلاً، تعمل كعوامل «زرع» تتيح للصفراء فائقة الإشباع بالكوليسترول بأن ترسب فائض الكوليسترول بشكل بلورات. وإن لم تفرغ البلورات المتشكلة حديثاً بشكل فوري إلى الأمعاء مع الصفراء، فإن البلورات سوف تكبر لتشكل الحصيات. وعندما تم قياس فعاليات الإنزيمات الأساسية في تشكيل الأحماض الصفراوية في أكباد المرضى بالحصيات الصفراوية، تبين وجود ارتفاع في تخليق الكوليسترول وانخفاض في تخليق الأحماض الصفراوية، مسبباً ارتفاع

تراكيز الكوليسترول في الكبد. ويبدو أن انخفاض فعالية α7- هيدروكسيلاز يؤدي إلى تناقص جميعة الأحماض الصفراوية الكبدية المعوية، والذي يرسل الإشارة إلى الكبد لإنتاج كوليسترول أكثر. وتصبح الصفراء بعد ذلك مفرطة الحمولة بالكوليسترول، الذي يكون غير قادر على الذوبان بشكل كامل في المذيبات المختلطة.

لقد استخدمت المعلومات المذكورة أعلاه والمتعلقة بذوبان الكوليسترول في محاولات لإذابة الحصيات الصفراوية أو لمنع تشكلها فيما بعد. ويبدو أن حمض كينو ديوكسي كوليك (Chenodeoxycholic) يعرض معالجة طبية نوعية للحصيات الصفراوية الشفيفة للأشعة واللاأعراضية في المرارة القائمة بوظيفتها بسبب تثبيطه النوعي لمختزلة HMG-CoA في الكبد، مع الانخفاض اللاحق في تخليق الكوليسترول.

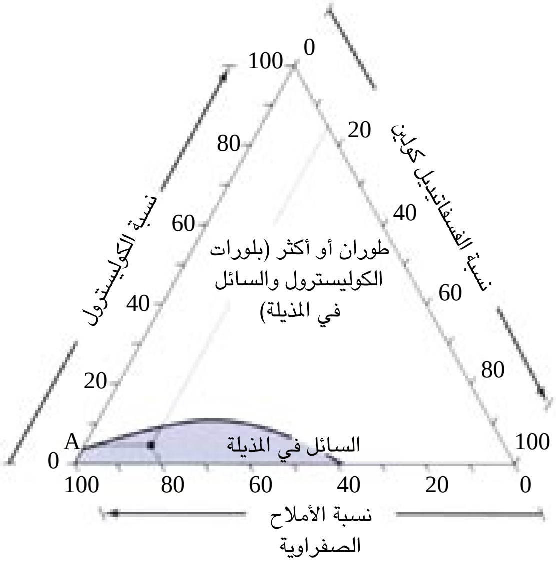
تسبب العيوب في إنزيمات هضم السكريات حدوث اضطرابات نوعية:

أ – لا تحمل اللاكتوز (Lactose Intolerance): يمكن أن يعزى لا تحمل اللاكتوز، سكر الحليب، إلى عوز إنزيم اللاكتاز. ونظراً لأن فعالية اللاكتاز هي التي تحدد معدل امتصاص اللاكتوز، فإن أي عوز في الإنزيم ينعكس مباشرة في تناقص معدل امتصاص السكر. ويجب عدم الخلط بين المتلازمة ولا تحمل الحليب الناتج عن الحساسية لبروتينات الحليب وعادة لـ β – لاكتوجلوبين. وتكون العلامات والاعراض في لا تحمل اللاكتوز هي نفسها بصرف النظر عن السبب. وتشمل المعوص البطنية والإسهال وانتفاخ البطن. وهي تعزى إلى تراكم اللاكتوز غير المهضوم، الذي يكون نشيطاً تناضحياً، بحيث يحتفظ بالماء، وكذلك إلى الفعل الاختماري للجراثيم المعوية على السكر والذي ينتج غازات ونواتج أخرى تعمل كمهيجات معوية.

هناك ثلاثة أنماط من عوز اللاكتاز (نقص اللاكتاز):

1 – *عوز اللاكتاز الوراثي:* في هذه المتلازمة التي تعد نادرة نسبياً، تظهر أعراض اللاتحمل مباشرة بعد الولادة. ويؤدي الإطعام بغذاء خال من اللاكتوز إلى اختفاء

الأعـراض. الجـدير ذكـره هنا أن اسـتـهـلاك اللبن الرائب يوفـر ليس فـقط β- جالاكتوزيداز النشيط لمهاجمة أي كميات صغيرة من اللاكتوز في الغذاء، بل وأيضاً يؤمن الكالسيوم والطاقة لتحل مكان الحليب. وتتوافر أيضاً مستحضرات تجارية من β –جالاكتوزيداز.



الشكل 55-4 : طريقة لتمثيل المكونات الثلاثة الرئيسية في الصفراء (أملاح صفراوية، وفسفاتيديل كولين، وكوليسترول) على مثلث متساوي الساقين. جرى التعبير عن كل مكون كنسبة مئوية مولية من إجمالي الملح الصفراوي وفسفاتيديل الكولين والكوليسترول. يمثل الخط ABC الذوبان الأعظمي للكوليسترول في خلائط متنوعة من الأحماض الصفراوية وفسفاتيديل الكولين. وتمثل النقطة P التركيب السوي للصفراء، الذي يحوي 5٪ كوليسترول، و 15 ٪ فسفاتيديل كولين، و 80٪ أملاح صفراوية، وتقع هذه النقطة ضمن منطقة ذات طور واحد من السائل في المذيلة. وتحوي الصفراء، التي يكون تركيبها واقعاً أعلى الخط، الكوليسترول بإفراط إما في شكل فائق الإشباع أو بشكل ترسبات (بلورات أو سائل بلوري).

2 - *انخفاض فعالية اللاكتاز الثانوي:* نظراً لكون هضم اللاكتوز محدود حتى عند الإنسان السليم، فإن لا تحمل الحليب ليس نادراً نتيجة للأمراض المعوية. ونذكر من الأمثلة الذرب (Sprue) المداري وغير المداري (البطني) والكواشيركور، والتهاب القولون والتهاب المعدة والأمعاء. ويمكن أن يلاحظ هذا الاضطراب بعد جراحة القرحة الهضمية أيضاً.

3 - *انخفاض فعالية اللاكتاز الأولي:* هو متلازمة شائعة نسبياً، لا سيما بين السكان غير البيض. وبما أن لا تحمل اللاكتوز لم يكن ظاهراً في بداية الحياة عند البالغين المصابين بهذا الاضطراب، فإنه يفترض وجود انخفاض تدريجي في فعالية اللاكتاز عند الأفراد المستعدين وذلك بسبب الانخفاض في تعبير الإنزيم. إلا أن هذا لا يعود إلى نقص في mRNA اللاكتاز، بل يبدو من المحتمل أن يكون الإخفاق في الترجمة هو سبب العوز.

ب – عوز السكّراز: يوجد عوز وراثي في إنزيمات ثنائية سكريداز السكراز والإيزومالتاز. حيث تكون حالتا العوز هذه مترافقتين بسبب وجود السكراز والإيزومالتاز معاً بشكل إنزيم معقد. وتحدث الأعراض في الطفولة المبكرة وهي نفسها كتلك التي وصفت في عوز اللاكتاز.

جـ – بيلة ثنائيات السكريد: قد يلاحظ ازدياد في إفراغ ثنائيات السكريد عند بعض المرضى بحالات عوز ثنائيات السكريداز. وقد يفرغ 300 مج أو أكثر من ثنائي السكريد في بول هؤلاء الأفراد وفي بول المرضى المصابين بأذية معوية (كالذرب).

د – سوء امتصاص أحاديات السكريد: توجد حالة ولادية ناجمة عن طفرة وحيدة يجري فيها امتصاص الجلوكوز والجالاكتوز ببطء، وذلك بسبب عيب في آلية النقل بالنواقل المشتركة للجلوكوز وNa^+ ($SGLT_1$). ولأن امتصاص الفركتوز لا يتم عن طريق هذا الناقل، فإن امتصاصه يكون سوياً. ويسبب سوء امتصاص الفركتوز والسوربيتول عند قلة من الأطفال والبالغين برازاً مائياً، وانزعاجاً بطنياً، وإنتاج غاز بسبب التخمر الجرثومي.

توجد الدقائق الكيلوسية في البول في البيلة الكيلوسية:

البيلة الكيلوسية (Chyluria) هي شذوذ يفرغ فيه المريض بولاً حليبياً بسبب وجود اتصال غير سوي بين السبيل البولي وجملة النزح اللمفية في الأمعاء، وتدعى هذه الحالة الناسور الكيلوسي. وفي شذوذ مشابه هو كيلوسية الصدر (Chylothorax)، يوجد اتصال غير سوي بين الحيز الجنبوي والنزح اللمفي للمعي الدقيق والذي يؤدي إلى تراكم السائل الحليبي الجنبوي. ويؤدي الإطعام بالجليسرولات ثلاثية الأسيل التي تكون فيها الأحماض الدهنية بسلسلة متوسطة الطول (أقل من 12 ذرة كربون) عوضاً عن الدهون الغذائية إلى اختفاء البيلة الكيلوسية. وفي كيلوسية الصدر، يؤدي استخدام ثلاثي أسيل الجليسرول ذي الأحماضة الدهنية قصيرة السلسلة إلى ظهور سائل جنبوي رائق وينجم كلا هذين التأثيرين عن حقيقة مفادها أن الأحماض الدهنية متوسطة السلسلة يجري امتصاصها إلى الوريد البابي الكبدي وليس بشكل دقائق كيلوسية في القناة الصدرية.يعاني المرضى، في عوز الكوليباز، من إسهال دهني نتيجة لعيب في فعالية اللیباز البنكرياسي.

قد يسبب امتصاص متعددات ببتيدية غير مهضومة حدوث تفاعلات مستضدية:

إن الأفراد الذين تحدث لديهم استجابة مناعية للبروتين المهضوم يجب أن يكونوا قادرين على امتصاص بعض البروتين غير المحلمه، لأن البروتين المهضوم غير مستضدي. وهذه الحالة ليست غير موثقة بشكل تام، لأنه من المعروف أن أضداد اللبأ تكون متوافرة عند الرضع.

يوجد دعم متزايد للفرضية القائلة أن العيب الأساسي في الذرب غير المداري متوضع ضمن الخلايا المخاطية في الأمعاء ويسمح لعديدات الببتيد الناتجة عن الهضم بالببسين والتربسين للجلوتين، وهو البروتين الأساسي في القمح، ليس فقط بإحداث تأثير مؤذ موضعي داخل الأمعاء ولكن بأن يجري امتصاصها إلى الدوران أيضاً وتحريض إنتاج الأضداد. وقد تم إثبات أن أضداد جلوتين القمح أو لأجزائه

في الدوران كثيراً ما تكون موجودة عند المرضى المصابين بالذرب غير المداري. والمسؤول عن الأذية هو ببتيد يتألف من ست أو سبع أحماض أمينية.

إن هذه الملاحظات عن أن الداء الذي هو من دون شك مضاهئ للداء البطني الخاص بالبالغين وعند الأطفال تطرح إمكانية أن يجري امتصاص أجزاء بروتينية ذات حجم جزيئي أكبر من الأحماض الأمينية من الأمعاء في ظروف معينة.

يلخص (الجدول 55-4) بعض الاضطرابات الناجمة عن سوء الامتصاص.

العلامات أو الأعراض	المادة سيئة الامتصاص
فقر الدم	الحديد، الڤيتامين B_{12}، الفولات
الوذمة	نواتج هضم البروتين
التكزُّز	الكالسيوم، المغنيزيوم، الڤيتامين D
تخلخل العظام	الكالسيوم، نواتج هضم البروتين، الڤيتامين D
لا تحمل الحليب	اللاكتوز
النزف، التكدُّم	الڤيتامين K
الإسهال الدهني (براز شحمي)	الشحميات، الڤيتامينات الذوابة في الدهن
داء هارتنوب (عيب في ناقل الأحماض الأمينية المتعادلة في الأمعاء)	الأحماض الأمينية المتعادلة

الجدول 55-4 : ملخص الاضطرابات الناجمة عن سوء الامتصاص.

الخلاصة:

1 – يتضمن الهضم شطر جزيئات الطعام بوساطة الحلمهة إلى جزيئات أصغر والتي يمكن امتصاصها خلال ظهارة السبيل المعدي المعوي.

2 – تهاجم الكربوهيدرات، والجليكوجين، من قبل الأميلاز اللعابي بشكل أولي، ثم بالأميلاز البنكرياسي في الأمعاء. وتجري مهاجمة كل من المالتوز الناتج بالإضافة إلى قليلات السكريد مع ثنائيات السكريد الأخرى من الغذاء، بإنزيمات هيدرولاز معوية نوعية لتشكيل أحاديات السكريد بخاصة الجلوكوز والفركتوز والجالاكتوز.

3 – يبدأ هضم البروتينات بوساطة إنزيم ببتيداز داخلي هو الببسين في الوسط الحمضي للمعدة، ويستمر الهضم بإنزيمات ببتيداز داخلية أخرى في الإفراز البنكرياسي (مثل التربسين والكيموتربسين والإيلاستاز) مع إنزيم ببتيداز خارجي هو الكربوكسي ببتيداز، الذي يشطر الأحماض الأمينية بالتتابع من النهاية الكربوكسيلية. ويستكمل هضم البروتينات بالمفرزات المعوية، بما في ذلك الببتيداز الخارجي والأمينوببتيداز مع ثنائية الببتيداز ذات النوعيات المختلفة، والتي تؤدي إلى تشكيل الأحماض الأمينية الحرة.

4 – يبدأ الليباز اللساني والليباز المعدي بحلمهة ثلاثي أسيل الجليسرول في المعدة، بعد أن يتم استحلاب المحتويات بالأملاح الصفراوية في الإثنا عشري، وتهاجم في النهاية بالليباز البنكرياسي.

5– يجري امتصاص نواتج الهضم في الأمعاء، كأحاديات السكريد والأحماض الأمينية وبعض ثنائيات الببتيد، إلى جانب الجليسرول والأحماض الدهنية الحرة، و 2– أحاديات أسيل الجليسرول الناتجة عن هضم ثلاثي أسيل الجليسرول. وتنقل أحاديات السكريد الذوابة في الماء والأحماض الأمينية والجليسرول والأحماض الدهنية قصيرة ومتوسطة السلسلة إلى الكبد في الوريد البابي الكبدي. ويعاد تخليق ثلاثي أسيل الجليسرول من الأحماض الدهنية طويلة السلسلة وأحاديات أسيل الجليسرول في الظهارة المعوية، لتشكيل الدقائق الكيلوسية، وتفرز هذه إلى الدوران عن طريق القناة الصدرية.

6 – تتضمن الاضطرابات الهضمية تلك الناجمة عن عوز الإنزيمات كاللاكتاز والسكراز. وينتج بعضها الآخر عن سوء الامتصاص، مثل عيوب في الناقل المشترك للجلوكوز والصوديوم SGLT1Na+، مما يقود إلى سوء امتصاص الجلوكوز والجالاكتوز. ويمكن أن تعزى الحالات الأخرى إلى استجابات مناعية تجاه امتصاص عديدات ببتيدية غير محلمهة، كما في الذرب غير المداري (Non-tropical sprue). وتنشأ الحصيات الصفراوية بسبب ترسب الكوليسترول في الصفراء الناجم عن ذوبانه القليل، مما يؤدي إلى التبلور وتشكيل الحصاة.

***References:**

Borgstrom B: The micellar hypothesis of fat absorption: Must it be revisited? *Scand J Gastroenterol* 1985;20:389.

Buller HA, Grand RJ: Lactose intolerance. *Annu Rev Med* 1990;41:141,

Eggermont E: Problems of transfer of carbohydrates at the level of the intestinal mucosa. In: *Inborn Errors of Metabolism.* Schaub J et al (editors). Raven Press, 1991.

Erlanson-Albertsson C: Pancreatic colipase. Structure and physiological aspects. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1125:1.

Foltmann B: Gastnc proteinases. *Essays Biochem* 1981; 17:52.

Hamosh M: *Lingual & Gastric Lipases: Their Role in Fat Digestion.* CRC Press, 1990.

Holdsworth CD: In vitro studies of sugar absorption in humans. In: *Sugars in Nutrition.* Gracey M et al (editors). Raven Press, 1991.

Kuksis A (editor): *Fat Absorption.* CRC Press, 1987.

Tso P: Gastrointestinal digestion and absorption of lipid. *Adv Lipid Res* 1985;21:143.

Wang CS, Hartsuck JA: Bile salt-activated lipase: A multiple function lipolytic enzyme. *Biochim Biophys Acta* 1993;1166:1.

Wolfe MM, Soll AH: The physiology of gastric acid secretion. *N Engl J Med* 1988;319: 1707.

Wursch P: Dietary fiber and unabsorbed carbohydrates. In: *Sugars in Nutrition.* Gracey M et al (editors). Raven Press, 1991.

Yang LY, Kuksis A: Apparent convergence (at 2-monoacylglycerol level) of phosphatidic acid and 2-monoacylglycerol pathways of synthesis of chylomicron triacylglycerols. *J Lipid Res* 1991 ;32: 1173.

الفصل السادس والخمسون

البروتينات السكرية

Glycoproteins

مقدمة:

البروتينات السكرية (Glycoproteins) هي عبارة عن بروتينات ترتبط بهيكلها عديد الببتيد سلاسل من قلائل السكريد (الجليكان (Glycan)) ارتباطاً تساهمياً. وتعد البروتينات السكرية أحد أصناف السكريات المقترنة (Glycoconjugates) أو السكريات (الكربوهيدرات) المعقدة. وتشير هذه المصطلحات إلى الجزيئات التي تحتوي على سلسلة سكرية أو أكثر مرتبطة ارتباطاً تساهمياً إلى البروتين (لتشكل البروتينات السكرية (Glycoproteins) والبروتيوجليكانات (Proteoglycans)، أو إلى الشحميات (لتشكل الشحميات السكرية (Glycolipids). وستدرس البروتيوجليكانات في (الفصل 57)، أما الشحميات السكرية فقد مرت معنا في (الفصل 16).

الأهمية الطبية البيولوجية:

إذا استثنيتا الألبومين، فإن كل بروتينات البلازما في الإنسان هي بروتينات سكرية. وتدخل في العديد من بروتينات الأغشية الخلوية (الفصل 43) كميات معقولة من السكريات. كما أن العديد من مواد الزمر (الفصائل) الدموية بروتينات سكرية، بينما يكون بعضها الآخر بشكل شحميات سكرية سفنجولية. وبعض الهرمونات (كموجهة الغدد التناسلية المشيمائية) بروتينات سكرية أيضاً. ويوماً بعد

يوم، تترسخ القناعة بأن السرطان اضطراب ناجم عن تنظيم جيني شاذ (الفصل 62)، وأفظع ما فيه هي النقائل (Metastases)، أي أن تترك الخلايا السرطانية النسيج الذي نشأت فيه (الثدي مثلاً)، وتهاجر عبر الدوران إلى مواضع بعيدة في الجسم (الدماغ مثلاً) حيث تنمو هناك بشكل شاذ يتسبب بنتائج كارثية على الشخص المصاب. ويعتقد الكثير من الباحثين في مجال السرطان أن التغير في بنية البروتينات السكرية والسكريات المقترنة (المعقدة) الأخرى على سطح الخلايا السرطانية يلعب الدور الأهم في ظاهرة النقائل هذه.

البروتينات السكرية منتشرة بشكل واسع وتقوم بوظائف عديدة:

توجد البروتينات السكرية في معظم الكائنات الحية، بدءاً من الجراثيم وانتهاء بالإنسان. وتحوي العديد من الفيروسات أيضاً بروتينات سكرية درس بعضها بشكل موسع لأنها مناسبة جداً لدراسات التخليق الحيوي. والعديد من البروتينات التي تخدم وظائف متنوعة هي بروتينات سكرية (الجدول 56-1) يتراوح محتواها من السكريات بين 1٪ وما يربو على 85 ٪ من وزنها.

وقد أجريت العديد من الدراسات لتحديد الدور الدقيق الذي تلعبه السلاسل قليلة السكريد في وظيفة البروتينات السكرية. ويلخص (الجدول 56-2) نتائج بعض هذه الدراسات؛ وبعض هذه الوظائف قد ثبتت، وما يزال البعض الآخر قيد التحري.

ترمز السلاسل قليلة السكريد معلومات بيولوجية:

يمكن أن يتولد عدد كبير من الروابط الجليكوزيدية بين السكاكر. فعلى سبيل المثال، يمكن أن ترتبط ثلاثة هيكسوزات (سكاكر سداسية) مختلفة بعضها مع بعض لتشكل أكثر من ألف ثلاثي سكريد مختلف. وتختلف الهيئة الفراغية للسكاكر حسب ارتباطاتها ومدى قربها من الجزيئات الأخرى التي يمكن أن يتآثر معها عديد السكريد.

والاعتقاد السائد حالياً هو أن السلاسل قليلة السكريد ترمز معلومات بيولوجية هامة تعتمد على محتواها من السكاكر وتسلسلها وهيئتها الفراغية. وكمثال على ذلك، فإن ثمالات المانوز – 6 – فسفات توجه الإنزيمات اليَحلولية المُخَلَّقة حديثاً إلى مقرها النهائي، أي اليحلولات (انظر فيما بعد).

الوظيفة	البروتين السكري
جزيء بنيوي	الكولاجين
مزلّق وعامل واق	الموسينات (Mucins)
جزيء ناقل	الترانسفيرين، السيرولوبلازمين
جزيء مناعي	الجلوبولينات المناعية، ومستضدات التوافق النسيجي
هرمونات	موجهة الغدد التناسلية المشيمائية، الهرمون المنبه للدرق (TSH)
إنزيمات	عديدة (مثال: الفسفاتاز القلوية)
موضع تعرف للارتباطات الخلوية	بروتينات مختلفة تساهم في التآثرات الخلوية – الخلوية (مثل النطفة والبيضة) وتآثرات الخلايا مع الفيروسات والجراثيم والهرمونات.
مضاد تجمد	بعض بروتينات البلازما لسمك الماء البارد
يتآثر مع سكريات نوعية	بعض الليكتينات، السيليكتينات (ليكتينات الالتصاق الخلوي)، الأضداد

الجدول 56-1 : بعض وظائف البروتينات السكرية.

* تعديل الخصائص الفيزيائية والكيميائية (الذوبان، اللزوجة، الشحنة، التهايؤ، التمسُّخ، مواضع ارتباط الجراثيم والڤيروسات)
* الحماية من الحل البروتيني (من داخل الخلية وخارجها)
* التأثير في المعالجة الحالة للبروتين لطلائع البروتينات عند تحولها إلى نواتج أصغر
* تدخلها في الفعالية البيولوجية (مثال: موجهة الغدد التناسلية المشيمائية البشرية)
* التأثير في انغراز البروتينات ضمن الأغشية وهجرتها ضمن الخلية وتوزيعها وإفرازها.
* التأثير في التخلُّق الجنيني والتطور والتمايز.
* إمكانية التأثير في مواضع نقائل الخلايا السرطانية.

الجدول 56-2 : بعض وظائف السلاسل قليلة السكريد في البروتينات السكرية.

أصبح لدينا التكنولوجيا التي يمكن استخدامها لكشف البروتينات السكرية وتنقيتها وتحليل بنيتها:

يضم (الجدول 56-3) مجموعة من الطرائق المستخدمة في كشف البروتينات السكرية وتنقيتها وتحليل بنيتها. كما يمكن تطبيق بعض الطرائق المستخدمة في تنقية البروتينات والإنزيمات (الفصل 8) لتنقية البروتينات السكرية. وبمجرد تنقية البروتين السكري، يمكن تحديد بنية سلاسل الجليكان الموجودة فيه باستخدام تنظير الطيف الكتلوي وتنظير الطيف بالرنين المغناطيسي النووي عالي المَيْز. ولكن ما يعقد تحليل البروتينات السكرية هو وجودها بشكل نظائر سكرية (Glycoforms)، وهذه عبارة عن بروتينات لها تسلسل الأحماض الأمينية نفسه لكن قلائل السكريد فيها مختلفة. ورغم عدم التركيز في هذا الفصل على تفاصيل الارتباط، إلا أنه من الضروري الفهم بأن الطبيعة الدقيقة لهذه الروابط بين سكاكر البروتينات السكرية تلعب دوراً هاماً في تحديد بنية هذه الجزيئات ووظائفها.

استعمالها	الطريقة
يكشف البروتينات السكرية بشكل أشرطة زهرية اللون بعد الفصل بالرحلان الكهربي	كاشف حمض شيف الدوري
يؤدي إلى كشف البروتينات السكرية بشكل أشرطة مشعة بعد الفصل بالرحلان الكهربي	حضن الخلايا المزروعة مع سكر مشع
تفيد الانزياحات الناجمة في الرحلان الكهربي في التمييز بين البروتينات السكرية الحاوية على N- جليكان أو O- جليكان أو GPI، وأيضاً تمييز نوع السلاسل الحاوية على N- جليكان (غنية بالمانوز أم معقدة)	المعالجة بالجليكوزيداز الداخلية أو الخارجية أو بالفسفوليباز المناسبة
لتنقية البروتينات السكرية أو الببتيدات السكرية التي ترتبط مع الليكتين الخاص المستعمل	الاستشراب على عمود السيفاروز – ليكتين
يكشف السكاكر التي يحويها البروتين السكري ونسبها	تحليل المكونات بعد الحلمهة الحمضية
يقدم معلومات حول الكتلة الجزيئية والتركيب والتسلسل، وأحياناً تفرع سلسلة الجليكان	تنظير الطيف الكتلوي
لتحديد السكاكر النوعية وسلاسلها وارتباطاتها وطبيعة الروابط الجليكوزيدية	تنظير الطيف بالرنين المغناطيسي النووي
لتحديد الارتباط بين السكاكر	تحليل المثيلة (الارتباط)
تحديد تسلسل الأحماض الأمينية.	سلسلة الأحماض الأمينية أو الدنا المتمم (cDNA)

الجدول 3-56 : بعض الطرائق الهامة المستعملة في دراسة البروتينات السكرية.

هناك ثمانية سكاكر شائعة في البروتينات السكرية البشرية:

يوجد في الطبيعة نحو مائتين من السكاكر الأحادية تشيع ثمانية منها فقط (ذكر معظمها في الفصل 15) في السلاسل قليلة السكريد للبروتينات السكرية (الجدول 56-4). ويوجد حمض N– أسيتيل النورامينيك (NeuAc) عادة في نهايات السلاسل قليلة السكريد مرتبطاً بالثمالة قبل النهائية التي غالباً ما تكون الجالاكتوز (Gal) أو N– أسيتيل جالاكتوزامين (GalNAc). وتوجد السكاكر الأخرى المدرجة في الجدول داخل هاتين الثمالتَيْن؛ كما يغلب أن ترتبط مجموعة السلفات إلى Gal أو GalNAc أو GlcNAc في البروتينات السكرية.

تعمل السكاكر النوكليوتيدية كمانحات للسكاكر في العديد من تفاعلات التخليق الحيوي:

أول سكر نوكليوتيدي ورد ذكره كان جلوكوز ثنائي فسفات اليوريدين (UDP-Glc)، وتظهر بنيته في الشكل 20-2. وقد أدرجت السكاكر النوكليوتيدية الشائعة التي تساهم في التخليق الحيوي للبروتينات السكرية في (الجدول 56-4). وما يزال سبب احتواء بعضها على UDP وبعضها الآخر على ثنائي فسفات الجوانوزين (GDP) أو أحادي فسفات السيتيدين (CMP) غير معروف. وتستخدم العديد من تفاعلات إضافة الجليكوزيل (وليس كلها) التي تتدخل في التخليق الحيوي للبروتينات السكرية هذه المركبات (انظر فيما بعد). والرابطة الأنهيدريدية (اللامائية) بين مجموعة الفسفات والسكاكر هي من نمط الروابط عالية الطاقة وذات القدرة العالية على المساهمة في تفاعلات نقل المجموعات (الفصل 12). وهكذا، فإن سكاكر هذه المركبات «مُفَعَّلة» (مُنَشَّطة) ويمكن نقلها إلى متقبِّلات مناسبة بشرط وجود الإنزيمات الناقلة (Transfrases) المناسبة.

تتشكل معظم سكاكر النوكليوتيدات في العصارة الخلوية بتفاعلات تتضمن بشكل عام ثلاثي فسفات النوكليوزيد الموافق. أما الأحماض السيالية المرتبطة بأحادي فسفات السيتيدين فتتشكل في النواة.ويحتاج تشكل جالاكتوز ثنائي فسفات اليوريدين (UDP-Gal) إلى التفاعلَيْن التاليين:

ثنائي فسفوريلاز جلوكوز ثنائي فسفات اليوريدين

UTP + جلوكوز – 1 – فسفات ⟷ UDP-Glc + بيروفسفات

إبيميراز UDP-Glc

UDp-Glc ⟷ UDP-Gal

وبما أن العديد من تفاعلات ضم الجليكوزيل تتم في تجويف جهاز جولجي، لذلك من الضروري وجود جمل ناقلة (إنزيمات البيرمياز والنواقل) لنقل السكاكر النوكليوتيدية عبر غشاء جولجي. وقد عرفت جمل ناقلة لكل من UDPGal و GDP-Man و CMP-NeuAc إلى صهاريج (Cisternae) جهاز جولجي. وهي عبارة عن جمل تنادل متعاكس (Antiport)، أي أنها تحقق توازناً عن طريق إدخال جزيئة سكر نوكليوتيدي وإخراج جزيئة من النوكليوتيد الموافق (UMP أو GMP أو CMP مثلاً) المتشكل من السكاكر النوكليوتيدية في الوقت نفسه. وتؤمن هذه الآلية تركيزاً كافياً من كل سكر نوكليوتيدي داخل جهاز جولجي. ويتشكل UMP من UDPGal في العملية السابقة كما يلي:

ناقلة الجالاكتوزيل

UDP-Gal + بروتين ⟶ بروتين + UDP + Gal

فسفاتاز النوكليوزيد ثنائي الفسفات

UDP ⟶ Pi + UMP

السكر	النمط	المختصر	السكر النوكليوتيدي	ملاحظات
الجالاكتوز	هيكسوز	Gal	UDP-Gal	يوجد غالباً قبل ثمالة NeuAc في البروتينات السكرية ذات الارتباط N؛ كما يوجد في ثلاثيات السكريد اللبية للبروتيوجليكانات.
الجلوكوز	هيكسوز	Glc	UPD-Glc	يوجد فقط خلال التخليق الحيوي للبروتينات السكرية ذات الروابط N، ولا يوجد عادةً في البروتينات السكرية النهائية.
المانوز	هيكسوز	Man	GDP-Man	سكر شائع في البروتينات السكرية ذات الارتباط N.
حمض N- أسيتيل النورامينيك	حمض السياليك (9 ذرات كربون)	NeuAC	CMP-NeuAc	غالباً ما يكون الثمالة المطرافية في كل من البروتينات السكرية ذات الارتباط N و O. وتوجد أنماط أخرى لحمض السياليك لكن NeuAc هو النوع الرئيسي الموجود في البشر قد يكون الأسيتيل مرتبطاً بالنيتروجين (N-acetyl) أو بالأكسجين (O-acetyl).
الفوكوز	ديوكسي هيكسوز (هيكسوز منزوع الأكسجين)	Fuc	GDP-Fuc	يمكن أن يكون خارجياً في كل من البروتينات السكرية ذات الارتباط N و O، أو داخلياً مرتبطاً بثمالة GlcNA، المتصلة بالأسباراجين (Asn) في الأنواع ذات الارتباط N، أو داخلياً مرتبطاً بمجموعة الهيدروكسيل الخاصة بالسيرين (مثال: في I-PA وبعض عوامل التخثر الأخرى).
N- أسيتيل الجالاكتوزامين	هيكسوز أميني	GalNAc	UDP-GaINAc	يوجد في كل من البروتينات السكرية ذات الارتباط N و O.
N- أسيتيل الجلوكوزامين	هيكسوز أميني	GlcNAc	UDP-GlcNAc	هو السكر المرتبط بسلسلة متعدد الببتيد بوساطة Asn في البروتينات السكرية ذات الارتباط N، كما يوجد أيضاً في مقرّات أخرى في قليلات السكريد لهذه البروتينات.
الزايلوز	بنتوز	Xyl	UDP-Xyl	يرتبط هذا السكر مع هيدروكسيل السيرين في الكثير من البروتيوجليكانات ، كما يرتبط بدوره مع ثمالتَي جالاكتوز لتشكيل ثلاثي سكريد ارتباطي كما يوجد هذا السكر في t-PA وبعض عوامل التخثر

الجدول 4-56 : السكاكر الأساسية الموجودة في البروتينات السكرية عند الإنسان (راجع الفصل 15 للتعرف على بناها).

تسهل إنزيمات الجليكوزيداز الخارجية والداخلية دراسة البروتينات السكرية:

لقد ثبتت فائدة العديد من إنزيمات الجليكوزيداز (Glycosidases) ذات النوعية المحددة في دراسة النواحي البنيوية والوظيفية للبروتينات السكرية (الجدول 56-5). وتعمل هذه الإنزيمات إما على المواضع الخارجية (الجليكوزيداز الخارجية) أو على المواضع الداخلية (الجليكوزيداز الداخلية) من السلاسل قليلة السكريد. ومن الأمثلة على الجليكوزيداز الخارجية نذكر النورامينيداز (Neuraminidases) والجالاكتوزيداز (Galactosidases) التي ينحصر عملها في نزع الثمالات النهائية (NeuAc) وما قبل النهائية (Gal) من معظم البروتينات السكرية.ومن ناحية أخرى، تقوم الأنماط F و H من إنزيمات الجليكوزيداز الداخلية بشطر السلاسل قليلة السكريد عند ثمالات GlcNAc نوعية قريبة من هيكل عديد الببتيد (أي في المواقع الداخلية، الشكل 56-5)، وهي تفيد في تحرير سلاسل طويلة من قلائل السكريد تستخدم في تحليل بنيتها. ويمكن أن يعامل البروتين السكري بواحد أو أكثر من إنزيمات الجليكوزيداز المذكورة سابقاً لتحليل تأثير نزع بعض السكاكر النوعية على سلوكه البيولوجي.

الإنزيمات	النمط
إنزيمات النورامينيداز	جليكوزيداز خارجية
إنزيمات الجالاكتوزيداز	جليكوزيداز خارجية أو داخلية
الجليكوزيداز الداخلية F	جليكوزيداز داخلية
الجليكوزيداز الداخلية H	جليكوزيداز داخلية

الجدول 56-5 : بعض إنزيمات الجليكوزيداز المستخدمة في دراسة بنية البروتينات السكرية ووظيفتها (1).

(1) تتوفر الإنزيمات من عدة مصادر، وهي غالباً نوعية لأنماط معينة من الروابط الجليكوزيدية، ولطبيعتها التصاوغية (Anomeric) أيضاً. وحددت مواضع عمل إنزيمات الجليكوزيداز الداخلية F وH في الشكل 56-5 ويعمل F على كل من قلائل السكريد المعقدة والغنية بالمانوز، أما H فيعمل على الأخيرة فقط.

تساهم مستقبلات البروتين السكري منزوع الحمض السيالي عند الثدييات في تصفية بعض البروتينات السكرية من البلازما بواسطة الخلايا الكبدية:

لعبت التجارب التي أجراها آشويل (Ashwell) ورفاقه في أوائل السبعينات من القرن العشرين دوراً هاماً في توجيه الأنظار إلى الأهمية الوظيفية للسلاسل قليلة السكريد للبروتينات السكرية؛ فقد قاموا بمعالجة السيرولوبلازمين (أحد بروتينات البلازما؛ انظر الفصل 59) بالنوراميناز في مختبرهم مما قاد إلى نزع ثمالات حمض السياليك (NeuAc) وانكشاف ثمالات (Gal) ما قبل النهائية (تكون عادة محتجبة بثمالات NeuAc النهائية). وقد لوحظ أن السيرولوبلازمين المشع المعامل بالنوراميناز يختفي بسرعة من الدوران بالمقارنة مع التصفية البطيئة التي تحصل للبروتين غير المعامل بهذا الإنزيم. وقد أثبتت دراسات أخرى أن الخلايا الكبدية تحوي مستقبلات البروتين السكري منزوع الحمض السيالي للثدييات (Mammalian asialoglycoprotein receptor). تتعرف هذه المستقبلات على ثمالة الجالاكتوزيل في العديد من بروتينات البلازما منزوعة الحمض السيالي وتتواسط التقامها الخلوي. ويشير هذا العمل إلى أن سكراً ما كالجالاكتوز يستطيع أن يلعب دوراً هاماً في التحكم، على الأقل، بإحدى الوظائف البيولوجية (أي فترة البقاء في الدوران) لبروتينات سكرية معينة.

تفيد الليكتينات في تنقية البروتينات السكرية وسبر وظائفها:

الليكتينات (Lectins) هي بروتينات رابطة للسكر ترص الخلايا أو ترسب السكريات المقترنة؛ والعديد منها بروتينات سكرية أيضاً. ولا يمكن اعتبار الجلوبولينات المناعية التي تتفاعل مع السكاكر من الليكتينات. فالأخيرة تضم موضعين رابطين للسكر على الأقل، ولن تستطيع البروتينات ذات الموضع الواحد لربط السكر أن ترص الخلايا أو ترسب السكريات المقترنة. وتعرف نوعية الليكتين عادة بالسكاكر ذات القدرة الأقوى في تثبيط فاعليتها في إحداث التراص أو الترسيب.

ويمكن أن نصنف الإنزيمات والذيفانات والبروتينات الناقلة على أنها ليكتينات إذا كانت تربط السكريات. ولقد اكتشفت الليكتينات للمرة الأولى في النباتات والمكروبات، لكننا نعرف الآن العديد من الليكتينات حيوانية المنشأ. ويعد مستقبل البروتين السكري منزوع الحمض السيالي للثدييات مثالاً هاماً عن لليكتينيات الحيوانية.

وقد أدرجت بعض الليكتينات الهامة في (الجدول 56-6). وتتركز العديد من الأبحاث الحالية على أدوار الليكتينات الحيوانية المختلفة (مثل السيليكتينات Selectins) في التآثرات الخلوية ـ الخلوية في الحالات المرضية كالالتهابات والنقائل السرطانية (انظر لاحقاً).

لقد تمت تنقية العديد من الليكتينات وأصبحت متوفرة تجارياً، وهناك ثلاثة ليكتينات نباتية مدرجة في (الجدول 56-7) استعملت تجريبياً على نطاق واسع. وفيما يلي ثلاثة من الاستخدامات الكيميائية الحيوية وضعت من أجلها هذه الليكتينات:

(1) تنقية البروتينات السكرية وتحليلها: يمكن أن ترتبط ليكتينات كالكونكاناڤالين A (concanavalin A; “ConA”) بشكل تساهمي إلى وسط داعم خامل كالسيفاروز (Sepharose). ويمكن استخدام المعقد الناجم (سيفاروز ـ كونكاناڤالين A) في تنقية البروتينات السكرية التي تحتوي على سلاسل قليلة السكريد تتآثر مع ConA.

(2) أدوات لسبر (Probing) سطوح الخلايا: بما أن الليكتينات تتعرف على سكاكر نوعية، لذلك يمكن استعمالها كمسبار ـ على المستوى العام ـ للثمالات السكرية المكشوفة على سطح أغشية الخلايا. وقد أجريت العديد من الدراسات باستعمال الليكتينات للتمييز بين سطوح الخلايا السوية والسرطانية (الفصل 62). ومن النتائج الهامة التي تم التوصل إليها هي أن تراص الخلايا السرطانية يحتاج لكميات من بعض الليكتينات أقل مما يحتاجه تراص الخلايا السوية. وهذا يعني أن تعضي عدد من البروتينات السكرية (أو بنيتها) على سطح الخلايا السرطانية يختلف عما هو عليه في الخلايا السوية.

الليكتين	أمثلة وتعليقات
ليكتينات الخضراوات	الكونكاناڤالين A، ليكتين حبة البازلاء.
راصة نتاش القمح (Wheat germ agglutinin)	تستعمل بشكل واسع في دراسات سطوح الخلايا السوية والسرطانية.
الريسين (Ricin)	بروتين سكري سام للخلايا مشتق من بذور نبات الخروع.
الذيفانات الجرثومية	ذيفانات معوية عطوبة بالحرارة لجراثيم الإشريكية القولونية وذيفان الهيضة.
الراصة الدموية لڤيروس النزلة الوافدة	مسؤولة عن ربط خلايا الثوي والالتحام بالغشاء.
النمط C	تتميز بوجود حقل التعرف على السكريات المعتمد على الكالسيوم (CRD)، ومنها مستقبلة البروتين السكري منزوع الحمض السيالي للثدييات والسيليكتينات والبروتين الرابط للمانوز.
النمط S	الليكتينات الحيوانية الرابطة للجالاكتوزيد بيتا التي تلعب دوراً في التآثرات الخلوية – الخلوية والخلوية – المَطرسية.
النمط P	مستقبلات المانوز – 6– فسفات.
النمط I	أعضاء من طائفة الجلوبولينات المناعية مثل السيالو أدهيسين الذي يتوسط التصاق البلاعم إلى خلايا مختلفة.

الجدول 6-56 : بعض الليكتينات العامة.

(3) لتوليد خلايا طافرة تنقصها إنزيمات معينة تساهم في تخليق قلائل السكريد: عندما تتعرض الخلايا الثديية في المزارع النسيجية إلى تراكيز مناسبة من بعض الليكتينات (مثل ConA) ، يقتل معظمها ويبقى القليل من الخلايا المقاومة. ووجد أن هذه الخلايا المتبقية ينقصها غالباً إنزيمات نوعية تتدخل في تخليق قلائل السكريد. وتنجو هذه الخلايا لأنها لا تخلق السلاسل قليلة السكريد التي تتآثر مع الليكتين المستعمل. وقد ساهم استعمال مثل هذه الخلايا الطافرة في توضيح العديد من مظاهر التخليق الحيوي للبروتينات السكرية.

الليكتين	الاختصار	السكاكر
الكونكاڤالين A	ConA	المانوز والجلوكوز
ليكتين فول الصويا		الجالاكتوز و GalNAc
راصة نتاش القمح	WGA	الجلوكوز و NeuAc

الجدول 7-56: ثلاثة ليكتينات نباتية والسكاكر التي تتآثر معها (1).

(1) في معظم الحالات تبدي الليكتينات نوعية للطبيعة التصاوغية للرابطة الجليكوزيدية (ألفا أو بيتا)، ولم يشر إلى ذلك في الجدول.

هناك ثلاثة أصناف رئيسية للبروتينات السكرية:

يمكن تقسيم البروتينات السكرية إلى ثلاثة أصناف رئيسية اعتماداً على طبيعة الروابط بين سلاسل عديد الببتيد والسلاسل قليلة السكريد فيها (الشكل 56-1): (1) تلك التي تحتوي على رابطة *O* – جليكوزيدية، وتشمل هيدروكسيل السلسلة الجانبية للسيرين أو الثريونين وأحد السكاكر مثل *N* – أسيتيل جالاكتوزامين (GalNAc-Ser[Thr])؛ (2) وتلك التي تحتوي على رابطة *N*– جليكوزيدية، وتضم نتروجين أميد الأسباراجين و *N*– أسيتيل الجلوكوزامين (GlcNAc-Asn)؛ (3) وتلك

المرتبطة مع الحمض الأميني الموجود في النهاية الكربوكسيلية للبروتين من خلال جزء فسفوريل الإيثانولامين المرتبط إلى قليل سكريد (جليكان)، والذي يرتبط بدوره عبر الجلوكوزامين إلى فسفاتيديل الإينوزيتول (PI). ويدعى هذا الصنف الأخير بالبروتينات السكرية المثبتة إلى جليكوزيل فسفاتيديل الإينوزيتول (المرتبطة بالـ GPI أو المثبتة إلى GPI) (GPI-linked) أو (GPI-anchored). كما توجد أصناف أخرى أصغر من البروتينات السكرية.

يتراوح عدد سلاسل قلائل السكريد المرتبطة بالبروتين الواحد بين سلسلة واحدة وثلاثين سلسلة أو أكثر، ويتراوح طول السلسلة بين ثمالة أو ثمالتين وبنى أكبر بكثير. وتحتوي العديد من البروتينات السكرية على أكثر من نمط من الروابط، فمثلاً الجليكوفورين هو بروتين سكري غشائي هام للكريات الحمراء (الفصل 60) يحوي قلائل سكريد بنوعين من الروابط O و N.

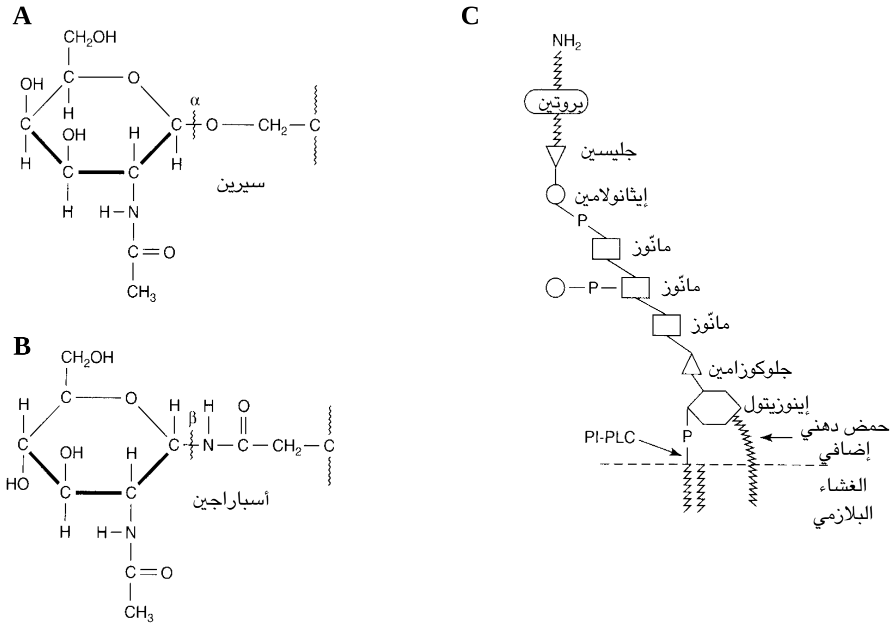
تحوي البروتينات السكرية أنماطاً مختلفة من الروابط الجليكوزيدية ـ O :

توجد على الأقل أربعة أصناف فرعية من الروابط الجليكوزيدية – O في البروتينات السكرية البشرية: (1) الرابطة GalNAc-Ser [Thr] الموضحة في (الشكل 56-1)، وهي الرابطة الأكثر انتشاراً. ويبين الشكل 56-2 سلسلتين من قلائل السكريد النموذجية الموجودة في أعضاء هذا الصنف الفرعي. وترتبط عادة ثمالة Gal أو NeuAc إلى GalNAc، ولكن يوجد العديد من الاختلافات في محتوى هذه السلاسل من السكاكر وفي طولها. ويوجد هذا النمط من الارتباط في المُوسينات (Mucins) (انظر لاحقاً).

(2) وتحتوي البروتيوجليكانات على ثلاثي سكريد مرتبط بالسيرين (Gal-Gal-Xyl-Ser) (لذلك يطلق على الرابطة اسم ثلاثية السكريد).

(3) وتحتوي الكولاجينات على الرابطة جالاكتوز ـ هيدروكسي الليسين (Gal-Hyl) وقد نوقش الصنفان الفرعيان (2) و (3) (بشكل واسع في الفصل 57).

(4) وتحتوي العديد من البروتينات النووية (كبعض عوامل الانتساخ) وبروتينات العصارة الخلوية على سلاسل جانبية تتألف من ثمالة GlcNAc وحيدة مرتبطة بثمالة السرين أو الثريونين (GlcNAc-Ser[Thr]).



الشكل 1-56 : أشكال تمثل (A) الرابطة O– (N– أسيتيل جالاكتوزامين مع السيرين)؛ (B) الرابطة N – (N– أسيتيل الجلوكوزامين مع الأسباراجين)؛ و (C) رابطة جليكوزيل فسفاتيديل الإينوزيتول رابطة (GPI). وتبدو بنية GPI في الشكل تربط إستراز الأسيتيل كولين إلى الغشاء البلازمي لكريات الدم الحمراء البشرية؛ والحمض الأميني الموجود في النهاية الكربوكسيلية هو الجليسين المرتبط برابطة أميدية عبر مجموعة COOH إلى المجموعة NH_2 في الفسفوريل الإيثانولامين، والتي بدورها ترتبط بثمالة المانوز. ويحتوي لب الجليكان على ثلاث ثمالات مانوز وثمالة جلوكوزامين؛ ويرتبط الجلوكوزامين مع الإينوزيتول الذي يرتبط بدوره مع حمض الفسفاتيديك. وقد أشير إلى موضع عمل PI - فسفوليباز C (PI-PLC)؛ وذكرت بنية الجليكان اللبي في النص. ويحتوي هذا GPI الخاص هذا على حمض دهني إضافي يرتبط مع الإينوزيتول، وأيضاً على جزء إضافي هو فسفوريل الإيثانولامين يرتبط بمنتصف ثمالات المانوز الثلاث. وتتضمن الفوارق التي تلاحظ بين مختلف بنى GPI نوعية الحمض الأميني في النهاية الكربوكسيلية والجزيئات المرتبطة بثمالات المانوز والطبيعة الدقيقة للجزء الشحمي.

A

NeuAc ⟶ GalNAc ⟶ Ser (Thr)

B

Gal ⟶ GalNAc ⟶ Ser (Thr)

↑α 2,3 ↑α 2,6

NeuAc NeuAc

الشكل 2-56 : بنية اثنين من قلائل السكريد ذات الرابطة – O، والتي توجد في مُوسين تحت الفك العلوي (A) والفيتوين (Fetuin) والبروتين السكري السيالي لأغشية كريات الدم الحمراء البشرية (B).

تحوي الموسينات كميات كبيرة من قلائل السكريد ذات الارتباط ـ O، وتبدي متواليات تكرارية من الأحماض الأمينية:

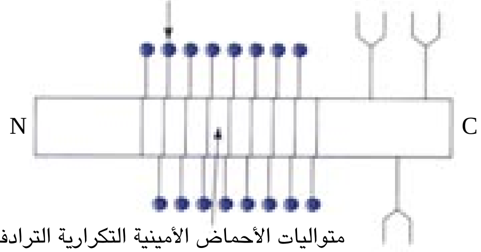
الموسينات (Mucins) هي بروتينات سكرية لها ميزتان أساسيتان:

(1) محتوى عال من قلائل السكريد ذات الرابطة – O (المحتوى السكري للموسين يكون عادة أكثر من 50 ٪).

(2) وجود متواليات تكرارية للأحماض الأمينية (تكرارات ترادفية) في مركز هيكلها عديد الببتيد ترتبط إليها سلاسل الجليكان – O بشكل عناقيد (الشكل 56-3). وهذه المتتاليات غنية بالسيرين والثريونين والبرولين.ورغم سيطرة الجليكانات – O، إلا أن الموسين يحوي عادةً عدداً من سلاسل الجليكان – N.

هناك نوعان من المُوسينات، نعني الإفرازية والمرتبطة بالغشاء. يوجد النوع الأول في مخاط مفرغات (إفرازات) الطرق الهضمية والتنفسية والتناسلية. ويتألف المخاط من الماء (نحو 94٪) والموسينات (5٪)، أما الباقي فهو مزيج من الجزيئات والكهارل الخلوية المختلفة وبقايا (Remnants) خلوية. وللموسينات الإفرازية بنية قليلة

القسيمات (Oligomeric)، ولذلك فهي ذات كتلة جزيئية كبيرة غالباً. وتتألف قلائل القسيمات هذه من مواحيد مرتبطة فيما بينها بروابط ثنائية السلفيد. ويبدي المخاط لزوجة عالية، وغالباً ما يشكل هلامة. وهذه الصفات هي نتيجة لمحتواه من الموسينات. والمحتوى العالي من الجليكانات – O يمنح الموسينات بنيتها الممتدة، ويفسر ذلك جزئياً بالتآثرات الفراغية بين ثمالات GalNAc والأحماض الأمينية المجاورة، مما يؤدي إلى تأثير مصلب للسلسلة، وبذلك يؤثر في شكل الموسين الذي يكون دائماً بشكل قضبان قاسية. وتشارك التآثرات غير التساهمية ما بين الجزيئات ـ والتي تحصل بين سكاكر مختلفة من سلاسل الجليكان المتجاورة ـ في تشكيل الهلام. وتمنح الكمية الكبيرة من ثمالات NeuAc والسلفات الموجودة في العديد من الموسينات الشحنة السلبية للأخيرة. أما من الناحية الوظيفية، فإن الموسين يساعد على التزليق، ويشكل حاجزاً فيزيائياً واقياً على السطوح الظهارية. وتشارك الموسينات المرتبطة بالأغشية في العديد من التآثرات الخلوية ـ الخلوية (كتلك التي تتضمن السيليكتينات، انظر أدناه).



الشكل 3-56 : مخطط ترسيمي للموسين يظهر سلاسل الجليكان – O مرتبطة بالمنطقة المركزية من سلسلة عديد الببتيد الممتدة وسلاسل الجليكان – N بالمنطقة المطرافية الكربوكسيلية. وتمثل المستطيلات الضيقة مجموعة من متواليات الأحماض الأمينية التكرارية الترادفية. ويحتوي الكثير من الموسينات على ثمالات السيستين التي تشكل مجموعات السلفهيدريل فيها روابط بين السلاسل (ولا تظهر هذه في الشكل).

وتقاوم الموسينات غالباً فعل إنزيمات البروتياز (Proteases) لأن كثافة سلاسل قلائل السكريد تجعل من الصعب على هذه الإنزيمات الوصول إلى الهيكل عديد الببتيد. وتميل الموسينات أيضاً إلى «تقنيع» بعض المستضدات السطحية. وتشكل العديد من الخلايا السرطانية كميات كبيرة من المُوسينات مما قد يعمل على «حجب» مستضدات سطحية معينة على هذه الخلايا فيحميها من الرصد المناعي. كما تحمل المُوسينات حواتم ببتيدية وسكرية نوعية للسرطان (الحاتمة Epitope هي موضع على المستضد يتعرف عليه الضد، ويدعى أيضاً المعينة أو المحددة المستضدية). وقد استخدمت بعض هذه الحواتم في تنبيه الاستجابة المناعية ضد الخلايا السرطانية.

لقد درست الجينات المرمزة للهيكل عديد الببتيد للعديد من الموسينات. وتم تنسيل (Cloning) وسلسلة سبعة من جينات المُوسينات البشرية (MUC l-7) على الأقل، بما فيها تلك التي ترمز الموسينات البنكرياسية والمعوية والرغامية القصبية والمعدية واللعابية. وقد كشفت هذه الدراسات عن معلومات جديدة عن الهيكل عديد الببتيد للموسينات (حجم التكرارات المترادفة، المواضع المحتملة لإضافة الجليكوزيل... إلخ)؛ ومن المفترض أن تقود في نهاية المطاف إلى التعرف على النواحي المتعلقة بالتحكم بهذه الجينات. وقد لخصت بعض خصائص الموسينات في (الجدول 56-8).

يستخدم التخليق الحيوي للبروتينات السكرية ذات الارتباط ـ O السكاكر النوكليوتيدية:

ترمز سلاسل عديدات الببتيد للبروتينات السكرية الحاوية على الجليكان – O أو غيره بأنواع الرنا المرسال (mRNA)؛ ولأن معظم البروتينات السكرية مرتبطة بالغشاء أو ستفرز من خلاله، فترجمتها تتم بشكل عام على عديدات الريباسات المرتبطة بغشاء الشبكة الهيولية الباطنة (الفصل 40). وهناك المئات من السلاسل قليلة السكريد من النمط – O. ويتم بناء هذه السلاسل بنقل السكاكر بالتدريج (واحداً فواحداً) من السكاكر النوكليوتيدية مثل (UDP-GalNAc و UDP-Gal و

CMP-NeuAc)؛ والإنزيمات التي تتوسط هذا النمط من التفاعلات هي نواقل جليكوزيل البروتينات السكرية المرتبطة بالغشاء.

وبشكل عام، يتطلب تخليق نمط من الروابط مساهمة الإنزيم الناقل الموافق. ولم تعرف بعد العوامل التي تحدد الثمالات النوعية (السيرين أو الثريونين) التي ستتم إضافة الجليكوزيل إليها؛ لكنها ربما تقبع في بنية الهيكل عديد الببتيد المحيط بموقع إضافة الجليكوزيل. وتتوضع الإنزيمات التي تجمع السلاسل ذات الارتباط – O في جهاز جولجي، وتنتظم بشكل متتابع في تجميع خطي تحدث من خلاله التفاعلات النهائية في أحياز جهاز جولجي المفروق.

ويلخص (الجدول 56-9) أهم خصائص التخليق الحيوي للبروتينات السكرية المحتوية على الجليكان – O.

تحتوي البروتينات السكرية ذات الارتباط ـ N على الرابطة Asn - GlcNAc :

تتميز البروتينات السكرية ذات الارتباط – N بوجود الارتباط Asn-GlcNAc (الشكل 56-1)؛ وهي تمثل الصنف الأكبر من البروتينات السكرية، وخضعت للكثير من الدراسة لأن معظم البروتينات السكرية المعروفة (مثل بروتينات البلازما) تنتمي إلى تلك المجموعة. وتحتوي على نوعين من البروتينات السكرية: مرتبطة بالغشاء وجوالة. ويتعلق الاختلاف الرئيسي بينها وبين الصنف السابق (بغض النظر عن طبيعة الأحماض الأمينية التي ترتبط إليها سلسلة قلائل السكريد (Asn مقابل Ser أو Thr) بتخليقها الحيوي.

* موجودة في مفرغات (إفرازات) الطرق الهضمية والتنفسية والتناسلية، وأيضاً في أغشية العديد من الخلايا.
* محتوى عال من سلاسل الجليكان – O، تحوي NeuAc عادة.
* تحوي متواليات متكررة من الأحماض الأمينية الغنية بالسيرين والثريونين والبرولين.
* تساهم بناها الممتدة في ليونتها ولزوجتها العالية.
* تشكل حاجزاً فيزيائياً واقياً على السطوح الظهارية، وتساهم في التـــأثرات الخلوية ـ الخلوية؛ وقـــد تحـــجب بعض المستضدات السطحية.

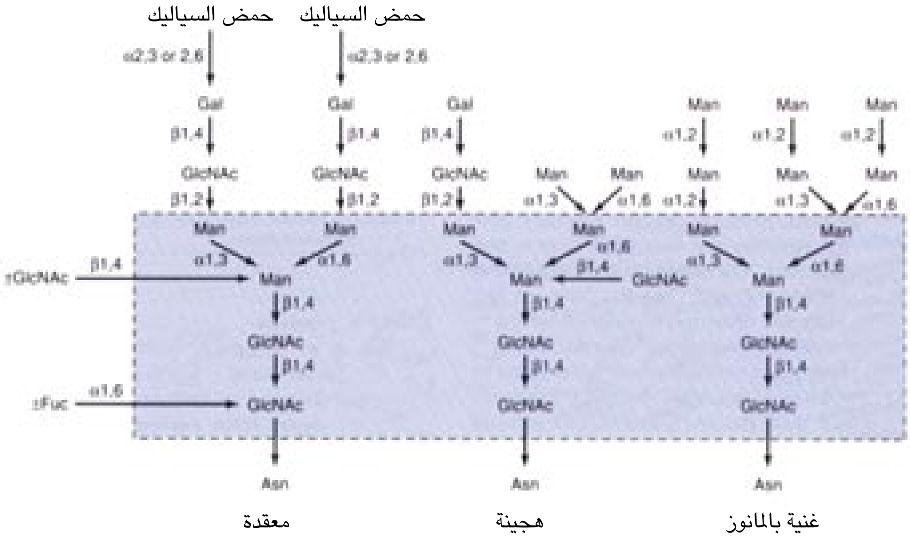
الجدول 56-8 : بعض خصائص الموسينات.

* تضم مجموعة من نواقل جليكوزيل البروتينات السكرية المرتبطة بالغشاء تعمل بأسلوب الخطوة خطوة. وتكون كل ناقلة نوعية لنمط معين من الروابط.
* تتوضع الإنزيمات المساهمة في مواضع مختلفة من جهاز جولجي.
* يشمل كل تفاعل سكراً نوكليوتيدياً مناسباً.
* لا يساهم في التـخليق قليل سكريد ثنائي فـسـفـات الدوليكول، ولا إنزيمات الجليكوزيداز؛ ولا تثبط تفاعلاته بالتونيكاميسين.
* يضاف الجليكوزيل – O بعد الترجمة إلى ثمالات معينة من السيرين والثريونين.

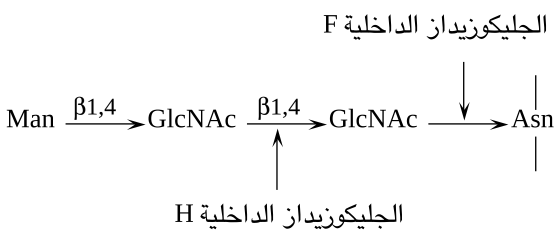
الجدول 56-9 : أهم خصائص التخليق الحيوي للبروتينات السكرية المحتوية على الجليكان – O

السلاسل المعقدة والهجينة والغنية بالمانوز هي الأصناف الرئيسية الثلاث للسلاسل قليلة السكريد ذات الارتباط ـ N :

هناك ثلاثة أصناف رئيسية للسلاسل قليلة السكريد ذات الارتباط ـ N هي المعقدة والهجينة والغنية بالمانوز (الشكل 56-4). وتشترك الأنماط الثلاثة في احتوائها على السكريد الخماسي $Man_3GlcNAc_2$ (يظهر ضمن المساحة المظلَّلة في الشكل 56-4، وفي الشكل 56-5 أيضاً)، ولكنها تختلف في فروعها الخارجية. ويمكن تفسير وجود السكريد الخماسي المشترك بحقيقة أن آلية التخليق الحيوي الابتدائية لهذه الأصناف الثلاثة واحدة. وتحتوي البروتينات السكرية ذات النمط المعقد على ثمالات NeuAc انتهائية تستبطنها ثمالة Gal ثم GlcNAc. وتؤلف هاتان الأخيرتان وحدة ثنائي السكريد -N أسيتيل اللاكتوزامين. وتتكرر أحياناً هذه الوحدة $[Gal\beta l\text{-}3/4GlcNAc\beta l\text{-}3]_n$ (الجليكانات عديدة -N أسيتيل اللاكتوزامين Poly-N- acetyllactosaminoglycans) في سلاسل الجليكانات ذات الارتباط – N؛ وعناصر مجموعة الدم I/i تنتمي لهذا النوع. ومعظم قلائل السكريد من النمط المعقد تحوي اثنين (الشكل 56-4) أو ثلاثة أو أربعة فروع خارجية، ولكن ذكر أيضاً وجود بنى من خمسة فروع خارجية. وتعرف فروع قلائل السكريد أحياناً على أنها هوائيات (Antennae)، ولذلك يمكن أن توجد بنية ثنائية أو ثلاثية أو رباعية أو خماسية الهوائي. ويوجد أعداد محيرة من السلاسل في النمط المعقد، والبنية المشار إليها في (الشكل 56-4) هي واحد منها فقط. وقد تنتهي السلاسل المعقدة الأخرى بالجالاكتوز (Gal) أو الفوكوز (Fuc). وتحوي قلائل السكريد الغنية بالمانوز ثمالتين إلى ست ثمالات مانوز مرتبطة باللب خماسي السكريد. ويكون للجزيئات الهجينة مظاهر من كلا الصنفين الآخرين.



الشكل 56-4: بنى الأنماط الأساسية لقلائل السكريد المرتبطة بالأسباراجين. وتضم المساحة المظللة اللب خماسي السكريد المشترك في كل البروتينات السكرية ذات النمط N.



الشكل 56-5 : مخطط يمثل اللب خماسي السكريد المشترك في جميع البروتينات السكرية من النمط N، والذي يمكن أن ترتبط به العديد من سلاسل قلائل السكريد الخارجية. وقد أشير في الشكل إلى مواضع تأثير إنزيمات الجليكوزيداز الداخلية F و H.

يتضمن التخليق الحيوي للبروتينات السكرية ذات الارتباط N قليل سكريد ثنائي فسفوريل الدوليكول:

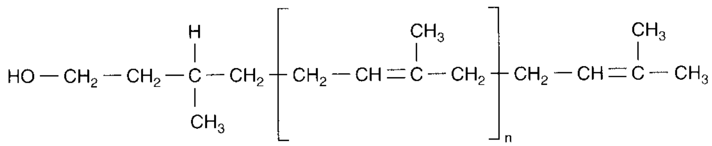
لقد وصف العالم ليلوار (Leloir) وبقية زملائه وجود قليل سكريد ثنائي فسفوريل الدوليكول (Oligosaccharide -pyrophosphoryldolichol) قليل سكريد ـ P-P - دوليكول [(Oligosaccharide - P-P- dol)] ثم أظهرت الأبحاث اللاحقة أنه يلعب دوراً في تخليق البروتينات السكرية ذات الارتباط ـ N. ويكون لسلسلة قليل السكريد في هذا المركب عموماً البنية التالية $Glc_3Man_9GlcNAc_2$-R (حيث R = P-P-Dol). وتتجمع سكاكر هذا المركب أولاً على الهيكل الأساسي لثنائي فسفوريل الدوليكول، ثم تنقل سلسلة قليلة السكريد بكاملها ككتلة واحدة إلى ثمالات الأسباراجين (Asn) الملائمة من صميم البروتين السكري (Apoglycoprotein) المتقبل خلال تخليقه على عديد الريباسات المرتبط بالأغشية. وتحتوي كل الجليكانات ذات الارتباط ـ N على بنية اللب خماسي السكريد المرسوم في (الشكل 56-5).

ولتشكيل السلاسل الغنية بالمانوز، تنزع ثمالات Glc، ويمكن أن تنزع أيضاً ثمالات مانوز محيطية محددة (وقد لا تنزع أي ثمالة مانوز). ولتشكيل سلسلة قليل سكريد من النمط المعقَّد، تنزع ثمالات الجلوكوز (Glc) وأربع ثمالات Man بوساطة إنزيمات الجليكوزيداز. وتضاف بعد ذلك السكاكر المميزة للسلاسل المعقَّدة (GlcNAc، Gal، NeuAc) بتفاعلات تتواسطها إنزيمات محددة ناقلة للجليكوزيل تتوضع في جهاز جولجي. وتسمى ظاهرة التدرك الجزئي الابتدائي لسلاسل الجليكان في البروتينات السكرية ذات النمط – N ثم إعادة تشكيلها في بعض الحالات بعملية معالجة (Processing) قليل السكريد. وتتشكل السلاسل الهجينة بمعالجة جزئية تقود إلى تشكيل سلاسل معقدة على إحدى الذراعين وبنى مانوزية على الذراع الآخر.

وهكذا، تختلف خطوات التخليق الحيوي الابتدائية للبروتينات السكرية ذات الارتباط ـ N بوضوح عن تلك التي تجري في التخليق الحيوي للبروتينات السكرية ذات الارتباط ـ O؛ فالأولى تضم قليل سكريد ثنائي فسفوريل الدوليكول؛ في حين لا دور له في النمط الثاني.

ويمكن تقسيم عملية الارتباط بالجليكوزيل من النمط N إلى مرحلتين: (1) تجميع ونقل قليل سكريد ثنائي فسفوريل الدوليكول؛ (2) ومعالجة سلسلة قليل السكريد.

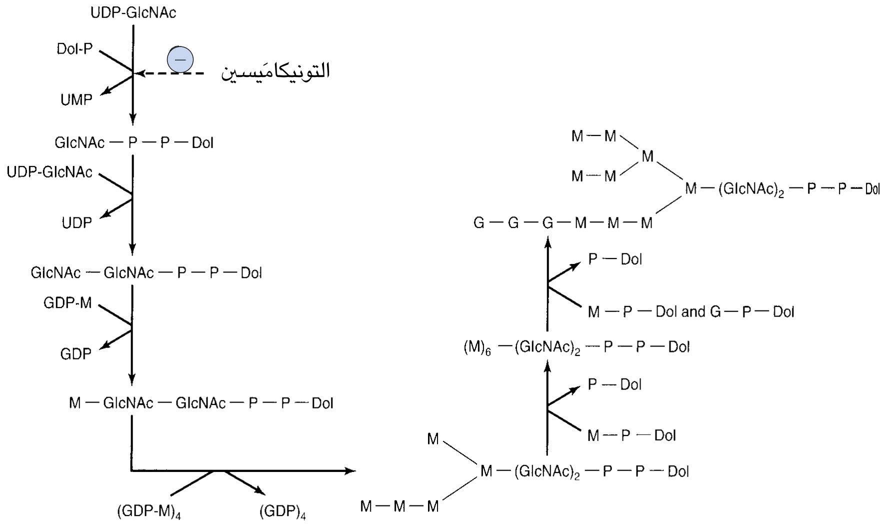
أولاً– تجميع قليل سكريد ثنائي فسفوريل الدوليكول ونقله: توجد المركبات عديدة الإيزوبرينول (Polyisoprenol) في كل من الجراثيم ونسج حقيقيات النوى. وتساهم في تخليق عديدات السكريد الجرثومية وفي التخليق الحيوي للبروتينات السكرية ذات الرابطة N والمثبتة إلى GPI. وعديد الإيزوبرينول المستعمل في نسج حقيقيَّات النوى هو الدوليكول (Dolichol)، والذي يعد ـ بعد المطاط ـ أطول المركبات الهيدروكربونية الموجود في الطبيعة والمكونة من تكرار الوحدة نفسها (Unit). ويتألف الدوليكول من تكرار 17-20 وحدة إيزوبرينويد (الشكل 56-6).



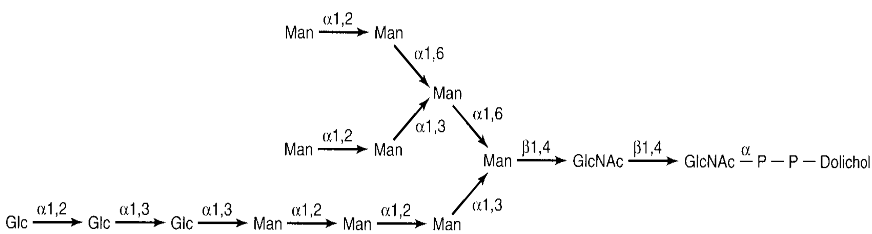
الشكل 6-56 : بنية الدوليكول. ترتبط مجموعة الفسفات في فسفات الدوليكول بمجموعة الكحول الأولية على النهاية اليسرى للجزيء؛ والمجموعة بين القوسين هي وحدة الإيزوبرين (n = 17-20 وحدة إيزوبرينويد).

وقبل أن يشارك الدوليكول في التخليق الحيوي لقليل سكريد ثنائي فسفوريل الدوليكول، تتم فسفتته أولاً لتشكيل فسفات الدوليكول (Dol-P) بتفاعل يحفزه إنزيم كيناز الدوليكول الذي يستعمل الأتب (ATP) كمانح للفسفات.

يشكل **دوليكول ثنائي فسفوريل الجلوكوزامين المؤستل (GlacNAc-P-PDol)** الشحم الرئيسي الذي يعمل كمتقبل للسكاكر الأخرى خلال تجميع قليل السكريد. وهو يخلق في أغشية الشبكة الهيولية الباطنة انطلاقاً من فسفات الدوليكول (Dol-P) و UDP-GlcNAc بالتفاعل التالي الذي تحفزه ناقلة فسفات أسيتيل الجلوكوزامين (GlcNAc-P):



الشكل 7-56 : سبيل التخليق الحيوي لقليل سكريد ثنائي فسفوريل الدوليكول. وقد تم إيضاح الرابطة النوعية المتشكلة في (الشكل 8-56). لاحظ بأن ثمالات المانوز الخمس الداخلية قدمت من قبل GDP - مانوز، في حين أن ثمالات المانّوز الخارجية أكثر وثمالات الجلوكوز قدمت من قبل فسفات دوليكول المانوز وفسفات دوليكول الجلوكوز (UDP: ثنائي فسفات اليوريدين؛ Dol: دوليكول؛ P: فسفات؛ UMP: أحادي فسفات اليوريدين؛ GDP: ثنائي فسفات الجوانوزين؛ M :المانوز؛ G: الجلوكوز).



الشكل 8-56 : بنية قليل السكريد ثنائي فسفوريل الدوليكول .(Dolichol-P-Poligosaccharide)

$$\text{Dol-P + UDP-GlcNAc} \longrightarrow \text{GlcNAc-P-P-Dol + UMP}$$

يشكل هذا التفاعل الخطوة الأولى في عملية تجميع قليل سكريد ثنائي فسفوريل الدوليكول التي تضم أيضاً تفاعلات أخرى (كلها موضحة في الشكل 56-7). وستجد فيما يلي الملامح الأساسية للخطوات التالية في تجميع قليل سكريد ثنائي فسفوريل الدوليكول:

(1) تضاف ثمالة ثانية من GlcNAc إلى الأولى باستعمال UDP-GlcNAc كمعط أيضاً.

(2) تضاف خمس ثمالات مانوز باستعمال GDP-Man كمانح للمانوز.

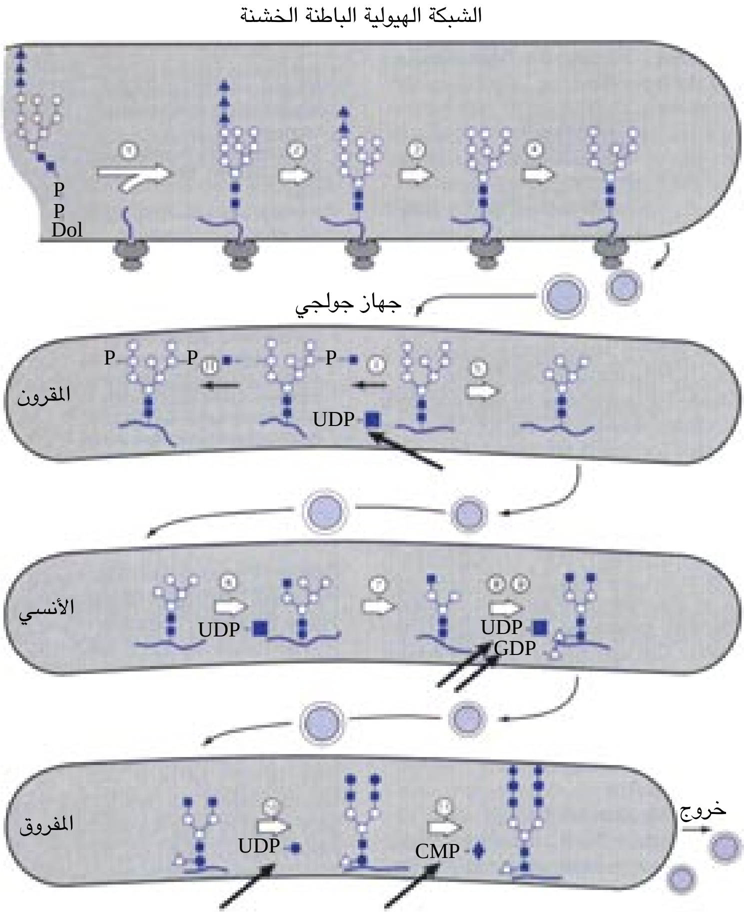
(3) تضاف أيضاً أربع ثمالات مانوز إضافية باستعمال Dol-P-Man كمانح. ويتشكل هذا الأخير بالتفاعل التالي:

$$\text{Dol-P + GDP-Man} \longrightarrow \text{Dol-P-Man + GDP}$$

(4) وأخيراً، تضاف ثمالات الجلوكوز الثلاث المحيطية، والمانح هنا هو Dol-P-Glc الذي يتشكل في تفاعل شبيه بالتفاعل السابق، إلا في كون Dol-P و UDP-Glc هما الركيزتان.

يجب أن تلاحظ هنا أن السكاكر السبعة الأول (ثمالتا GlcNAc وخمس ثمالات Man) قدمتها السكاكر النوكليوتيدية، في حين أن السكاكر السبعة الأخيرة (أربع ثمالات Man وثلاث ثمالات Glc)المضافة قدمت من قبل سكاكر فسفات الدوليكول (Dolichol-P sugars). والمحصلة النهائية هي تجميع للمركب الموضح في الشكل 56-8، والذي يدعى اختصاراً كما يلي:

$$\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2\text{-P-P-Dol}$$



الشكل 56-9: مخطط توضيحي لسبيل معالجة قليل السكريد. تحفز التفاعلات بالإنزيمات التالية: ① ناقلة قليل السكريد للبروتين؛ ② : ألفا – جلوكوزيداز I؛ ③ : ألفا – جلوكوزيداز II؛ ④ : ألفا 1، 2 مانوزيداز في الشبكة الهيولية الباطنة؛ I : ناقلة - N أسيتيل جلوكوزامين الفسفات؛ II N- أسيتيل جلوكوزامين – 1 – فُسفودَايستر ألفا ـ N ـ أسيتيل جلوكوزامينيداز؛ ⑤ : ألفا – مانّوزيداز I الخاص بجهاز جولجي؛ ⑥: ناقلة - N أسيتيل جلوكوزامينيل I، ⑦ : ألفا مانوزيداز II الخاص بجهاز جولجي؛ ⑧ ناقلة - N أسيتيل جلوكوزامينيل II؛ ⑨ : ناقلة الفوكوزيل؛ ⑩: ناقلة الجالاكتوزيل؛ ⑪: ناقلة السياليل. المربع المطموس: N- أسيتيل جلوكوزامين؛ الدائرة البيضاء: المانّوز؛ المثلث المطموس: الجلوكوز؛ المثلث الأبيض: الفوكوز؛ الدائرة المطموسة: الجالاكتوز؛ المعين المطموس: حمض السياليك).

بعد ذلك، ينقل قليل السكريد المرتبط بثنائي فسفوريل الدوليكول ككتلة واحدة ليشكل رابطة جليكوزيدية ـ N مع ثمالة أو أكثر من ثمالات Asn الموجودة في البروتين المتقبل المنبثق من السطح التجوفي لغشاء الشبكة الهيولية الباطنة. ويحفِّز تفاعل النقل هذا بناقلة قليل السكريد للبروتين (Oligosaccharide:protein transferase) المرتبطة مع الغشاء. ويمكن للناقلة أن تتعرف على أية ركيزة لها البنية العامة $R\text{-}(GlcNAc)_2\text{-}P\text{-}P\text{-}Dol$ وتنقلها، لكن الأفضلية تكون للبنية $Glc_3Man_9GlcNAc_2\text{-}P\text{-}P\text{-}Dol$. ويتم ربط الجليكوزيل إلى ثمالة الأسباراجين الموجودة في المتوالية ثلاثية الببتيد Asn-X-Ser/Thr (حيث X هو أي حمض أميني باستثناء البرولين أو الأسبارتات أو الجلوتامات). ويفضل عادة ثلاثي الببتيد الموجود ضمن بنية اللفة بيتا (turn β) وفي واقع الأمر، يتم ربطُ الجليكوزيل فقط إلى نحو ثلث ثمالات Asn التي يمكن اعتبارها مواضع محتملة لذلك؛ وهذا يعني أن هناك عوامل أخرى مهمة في تحديد موضع ارتباط الجليكان.

والبروتينات المتقبلة هي إما غشائية أو معدة للإفراز. ونادراً ما تتم إضافة الجليكوزيل لبروتينات العصارة الخلوية. ويوضح (الشكل 56-9) تفاعل النقل هذا وما يتبعه من عمليات ربط للجليكوزيل بالبروتينات من نمط الارتباط – N إلى جانب مواضعها تحت الخلوية. والناتج الآخر لتفاعل ناقلة قليل السكريد للبروتين هو ثنائي فسفوريل الدوليكول الذي يتحول (بواسطة الفسفاتاز) إلى فسفات الدوليكول. ويمكن لهذا الأخير أن يخدم مرة أخرى كمتقبل لتخليق جزيء آخر من قليل سكريد ثنائي فسفوريل الدوليكول.

ثانياً: معالجة سلسلة قليل السكريد:

1 – الطور الباكر (الشكل 56-9) : يحفز إنزيم ناقلة قليل السكريد للبروتين التفاعل 1 (انظر آنفاً). ويتضمن التفاعلان 2 و 3 نزع ثمالة Glc الانتهائية بالجلوكوزيداز I وثمالتي الجلوكوز التاليتين بوساطة الجلوكوزيداز II على الترتيب. وفي حالة البروتينات السكرية الغنية بالمانوز، يمكن أن تتوقف العملية هنا، أو يمكن أن يتم نزع أربع ثمالات مانّوز أخرى على الأكثر.

أما تشكيل السلاسل المعقدة فيتطلب خطوات إضافية أخرى كما يلي: يتم نزع أربع ثمالات مانوز خارجية بالتفاعلين 4 و 5 بوساطة إنزيمي مانوزيداز مختلفين على الأقل. وفي التفاعل 6، تضاف ثمالة GlcNAc إلى ثمالة المانوز في الذراع Manα1-3 بوساطة ناقلة GlcNAc الأولى (GlcNAc transferase I)؛ ويسمح فعل هذا الإنزيم بحدوث التفاعل 7 الذي يحفزه إنزيم مانوزيداز آخر (ألفا ـ مانوزيداز II الجولجي)، والذي يؤدي إلى إنقاص عدد ثمالات المانوز إلى ثلاثة (الشكل 56-5).

وهناك طريق إضافي (أشير إليه بالتفاعلين I و II في الشكل 56-9) تدخله الإنزيمات المصممة لإرسالها إلى اليحلولات. ويتم تهديف هذه الإنزيمات إلى اليحلولات من خلال وصمها بواصمة كيميائية نوعية؛ فتضاف في التفاعل الأول (I) ثمالة N - أسيتيل الجلوكوزامين –1– فسفات (GlcNAc-1-P) إلى الكربون 6 لواحد أو أكثر من ثمالات المانوز النوعية في هذه الإنزيمات. ويحفز هذا التفاعل بناقلة N - أسيتيل الجلوكوزامين –1– فسفات (GlcNAc phosphotransferase) (ناقلة أسيتيل الجلوكوزامين المفسفت) التي تستعمل UDP-GlcNAc كمانح، وتولد UMP كأحد النواتج:

ناقلة أسيتيل الجلوكوزامين المُفسفَت

UDP-GlcNAc+Man-Protein ⟶ GlcNAc-1-P-6-Man-Protein + UMP

في التفاعل II يجري نزع GlcNAc بفعل إنزيم الفُسفودَايستراز (Phosphodiesterase) لنحصل على ثمالات المانوز المُفسفتة في الموضع 6:

الفُسفودَايستراز

GlcNAc-1-P-6-Man-Protein ⟶ P-6-Man-Protein + GlcNAc

تربط مستقبلات المانوز – 6 – فسفات (Man 6-P receptors) الموجودة في جهاز جولجي ثمالات المانوز – 6 – فسفات في هذه الإنزيمات وتوجهها إلى اليُحلولات. وتكون فعالية ناقلة أسيتيل الجلوكوزامين المُفسفَت في الأرومات الليفية المأخوذة من مرضى داء الخلية I (I-cell disease) (انظر لاحقاً) ناقصة بشدة.

2 – الطور المتأخر: لتشكيل سلسلة قليل سكريد معقد نمطي، يجب إضافة سكاكر إضافية إلى البنية المتشكلة في التفاعل 7. وهكذا، ففي التفاعل 8 تضاف ثمالة GlcNAc ثانية إلى ثمالة Man المحيطية في الذراع الأخرى من البنية ثنائية الهوائي المبيَّنة في (الشكل 56-9)، والإنزيم المُحفِّز لهذه الخطوة هو ناقلة GlcNAc الثانية (GlcNAc) (II) ترانسفيراز (II) وتضم التفاعلات 9 و 10 و 11 إضافة ثمالات Fuc وGal و NeuAc إلى المواضع المشار إليها، وتحفزها ناقلات الفوكوزيل والجالاكتوزيل والسياليل على الترتيب. ويتطلب تجميع سلاسل عديد الـ N– أسيتيل لاكتوزامين poly-N-acetyl-lactosamile إضافة ناقلات GlcNAc.

الموضعان الرئيسيان لإضافة الجليكوزيل هما الشبكة الهيولية الباطنة وجهاز جولجي:

كما هو مبين في (الشكل 56-9)، يعد كل من الشبكة الهيولية الباطنة وجهاز جولجي الموضعين الأساسيين اللذين تتم فيهما إضافة الجليكوزيل. ويجري تجميع قليل سكريد ثنائي فسفوريل الدوليكول في كل من السطوح الهيولية واللمعية للجملة الشبكية الباطنة. وتجري إضافة قليل سكريد إلى البروتين في الشبكة الهيولية الباطنة الخشنة خلال أو بعد الترجمة. كما يتم نزع Glc وبعض ثمالات Man المحيطية في الشبكة الهيولية الباطنة أيضاً. ويتألف جهاز جولجي من صهاريج مقرونة ومتوسطة ومفروقة؛ وهي يمكن فصلها بطرائق التنبيذ المناسبة. ويبدو أن الحويصلات المحتوية بروتينات سكرية تتبرعم من الشبكة الهيولية الباطنة، وتنقل إلى جهاز جولجي المقرون. وقد بينت عدة دراسات أن الإنزيمات المشاركة في معالجة البروتينات السكرية تبدي توضعات مختلفة في صهاريج جولجي. وكما هو موضح (بالشكل 56-9)، يتوضع ألفا – مانوزيداز I الخاص بجهاز جولجي (المحفز

للتفاعل 5) بشكل أساسي في جولجي المقرون، في حين أن ناقلة GlcNAc (المحفزة للتفاعل 6) تتوضع في جولجي المتوسط، أما ناقلات الفوكوزيل والجالاكتوزيل والسياليل (المُحفِّزة للتفاعلات 9 و 10 و 11) فتتوضع في جولجي المفروق. ويلخص (الجدول 56-10) الملامح الرئيسة للتخليق الحيوي للبروتينات السكرية ذات الارتباط – N المختلفة، بالضرورة، عن تلك المُدرجة سابقاً (الجدول 56-9) للبروتينات السكرية ذات الارتباط – O.

تمتلك بعض الجليكانات المتوسطة المتشكلة خلال ضم الجليكوزيل وظائف نوعية:

فيما يلي عدد من الوظائف النوعية لسلاسل الجليكان – N التي تم التثبت منها، أو التي ما زالت قيد الاستقصاء. (1) إن مساهمة إشارة المانوز P-6 في تهديف بعض الإنزيمات اليحلولية واضحة (انظر أعلاه ومناقشة داء الخلية I فيما بعد). (2) من المحتمل أن تساعد سلاسل الجليكان – N الكبيرة الموجودة على البروتينات السكرية المتخلقة حديثاً في حفظ هذه البروتينات في حالة ذوابة ضمن لمعة الشبكة الهيولية الباطنة. (3) تبين أن نوعاً واحداً من سلاسل الجليكان – N يلعب دوراً في تطوي بعض البروتينات السكرية واحتباسها في تجويف الشبكة الهيولية الباطنة. والكالنكسين (Calnexin) بروتين يوجد في غشاء الشبكة الهيولية الباطنة، وهو يعمل «كشابيرون» (بروتين مرافق) (الفصل 43). والشابيرون هو بروتين يرتبط بالبروتين المتخلق حديثاً ويساعد على تطويه بشكل مناسب. وقد تبين أن الكالنكسين يرتبط نوعياً بعدد من البروتينات السكرية (مثل الراصة الدموية لڤيروسات النزلة الوافدة [HA]) والذي له بنية لبية أحادية الجليكوزيل (Monoglycosylated core structure).

وهذا النوع هو ناتج التفاعل 2 المبين في (الشكل 56-9)، والذي يتم انتزاع ثمالة الجلوكوز الانتهائية منه، مع إبقاء الجلوكوز الأعمق المرتبط فقط. ويحتاج تحرر HA كامل التطوي من الكالنكسين إلى نزع إنزيمي لثمالة الجليكوزيل الأخيرة هذه بوساطة ألفا ـ جلوكوزيداز II. وبهذا الشكل، يبقي الكالنكسين بعض البروتينات

السكرية المتطوية جزئياً (أو غير المتطوية أو المتطوية بشكل خاطئ)، ثم يحررها عندما يحصل التطوي الملائم.

* ينقل قليل السكريد $Glc_3Man_9(GlcNAc)_2$ من قليل سكريد ثنائي فسفوريل الدوليكول في تفاعل تحفزه ناقلة قليل السكريد للبروتين الذي يتثبَّط بالتونيكامَيْسين
* يتم الانتقال إلى ثمالات Asn نوعية في التسلسل Asn-X-Ser/Thr حيث X هي أية ثمالة عدا Pro أو Asp أو Glu.
* قد يحدث النقل في الشبكة الهيولية الباطنة خلال الترجمة.
* تتم بعد ذلك معالجة قليل السكريد المرتبط بالبروتين جزئياً بوساطة الجلوكوزيداز والمانوزيداز، وإذا لم تحصل إضافة المزيد من السكاكر، فإن هذا يؤدي إلى سلاسل غنيَّة بالمانوز.
* إذا حدثت المعالجة وصولاً إلى السكريد اللبي الخماسي $Man_3(GlcNAc)_2$، فإنه يتم تخليق السلاسل المعقدة بإضافة GlcNAc وحذف اثنين Man وإضافة تدريجية للسكاكر الفردية في تفاعلات تحفزها ناقلات نوعية (مثل ناقلات GlcNAc، Gal، NeuAc)، التي تستخدم سكاكر نوكليوتيدية مناسبة.

الجدول 10-56 : ملخص الملامح الأساسية لعملية ضم الجليكوزيل – N.

هناك العديد من العوامل التي تنظم ضم الجليكوزيل إلى البروتينات السكرية:

يبدو واضحاً أن ضم أو إضافة الجليكوزيل إلى البروتينات السكرية هي عملية معقدة، تجري بمشاركة عدد كبير من الإنزيمات. وكدليل على درجة تعقيدها هو أن أكثر من عشرة من ناقلات GlcNAc المتميزة تتدخَّل في التخليق الحيوي للبروتينات السكرية، ويمكن أن يكون هناك عدد آخر من الناحية النظرية. وتوجد أيضاً أنواع عديدة من ناقلات الجليكوزيل الأخرى (مثل ناقلة السياليل). وتتضمن عوامل مراقبة المرحلة الأولى من التخليق الحيوي للبروتينات السكرية ذات الارتباط – N (مثل تجميع قليل السكريد ونقله): (1) وجود مواضع استقبال مناسبة في البروتينات؛ و (2) مستوى نسيجي من Dol-P؛ و (3) فعالية ناقلة قليل السكريد.

يبين (الجدول 56-11) بعض العوامل المعروفة التي تسهم في تنظيم معالجة قلائل السكريد. وهناك نقطتان من هذه العوامل المدرجة تحظيان باهتمام خاص:

أولاً: تدل الاختلافات بين الأنواع في الإنزيمات المعالجة على أهمية إنتاج البروتينات السكرية بالنسبة للاستعمال الدوائي بتكنولوجيا الدنا (DNA) المأشوب؛ فعلى سبيل المثال، يعطي الإريثروبويتين (الإيبوتين ألفا؛ EPO) المأشوب في بعض الحالات إلى المرضى بأنماط معينة من فقر الدم المزمن لتنبيه تشكل الكريات الحمراء. ويتأثر العمر النصفي للإريثروبويتين في البلازما بطبيعة نمط ضم الجليكوزيل إليه، مع أنماط معينة ذات عمر نصفي قصير؛ وهذا يحد بشكل واضح فترة الفاعلية الدوائية. لذلك، يكون من المهم الحصول على EPO من الخلايا المضيفة التي توفر نمطاً من ضم الجليكوزيل يتوافق مع العمر النصفي السوي في البلازما.

ثانياً: هناك اهتمام كبير بتحليل فاعلية الإنزيمات المعالجة للبروتينات السكرية في أنماط مختلفة من الخلايا السرطانية. حيث تبين أن هذه الخلايا غالباً ما تقوم بتخليق سلاسل قليلة سكريد مختلفة (أي تبدي غالباً تفرغاً أكبر) عن تلك المصنوعة في الخلايا الشاهدة. ويمكن أن يكون ذلك ناجما عن أن الخلايا السرطانية تحوي طرزاً مختلفة من ناقلات الجليكوزيل تختلف عن تلك التي في الخلايا السوية الموافقة، وذلك بسبب تنشيط الجين النوعي أو كميته. ويمكن أن تؤثر الاختلافات في السلاسل قليلة السكريد على تآثرات الالتصاق بين الخلايا السرطانية وخلاياه الأصلية في النسيج السوي؛ مما يسهم في حدوث النقائل. وإذا كانت هناك علاقة بين فعالية الإنزيمات المعالجة الخصوصية والخصائص الانتقالية للخلايا السرطانية (الفصل 62)، فقد يكون هذا مهماً لأنه قد يسمح بتخليق الدواء لتثبيط هذه الإنزيمات، ومن ثم النقائل بشكل ثانوي. أما على مستوى الجين، فقد تم حتى الآن تنسيل العديد من ناقلات الجليكوزيل، وهناك أخريات أيضاً قيد الدراسة. وقد أظهر التنسيل معلومات جديدة حول بنى كل من الجين والبروتين. ويسلط هذا الأخير الضوء على الآليات المشاركة في مراقبة الانتساخ، وقد استخدمت الدراسات الجينية البارزة لتقييم الأهمية البيولوجية للعديد من ناقلات الجليكوزيل.

العامل	ملاحظات
نمط الخلية	تحوي الأنماط الخلوية المختلفة نماذج مختلفة من إنزيمات المعالجة.
الإنزيم السابق	تعمل بعض ناقلات الجليكوزيل فقط على السلسلة قليلة السكريد إذا كانت هذه السلسلة قد خضعت من قبل لفعل إنزيم معالج آخر[1].
التطور	قد يتبدل النموذج الخلوي لإنزيمات المعالجة خلال التطور فيما إذا نشُطَت جيناتها أو تعطلت.
التوضع داخل الخلية	على سبيل المثال إذا كان الإنزيم مخصصاً للانغراز في غشاء الشبكة الهيولية الباطنة (مثل مختزلة CoA-HMG)، فإنه يمكن ألا يصادف أبداً إنزيمات المعالجة المتوضعة في جهاز جولجي.
الهيئة الفراغية للبروتين	قد تسهل الاختلافات في هيئة البروتينات المختلفة أو تمنع وصول إنزيمات المعالجة لسلاسل قليلة السكريد المتماثلة.
الأنواع	قد تمتلك الخلايا نفسها (مثل الأرومات الليفية) من الأنواع المختلفة نماذج مختلفة من إنزيمات المعالجة.
السرطان	قد تملك الخلايا السرطانية إنزيمات معالجة مختلفة عن تلك الموجودة في الخلايا السوية الموافقة

الجدول 56-11 : بعض العوامل المؤثرة في فعاليات إنزيمات معالجة البروتينات السكرية

1 – مثلاً يكون الفعل السابق لناقلة GlcNAc (I) ضرورياً لفعل المانّوزيداز الخاص بجهاز جولجي.

يثبط التونيكامَيْسين ضم الجليكوزيل ــ N وليس ــO :

من المعروف أن هناك عدداً من المركبات التي تثبِّط تفاعلات مختلفة مشاركة في معالجة البروتينات السكرية. ومن هذه المركبات؛ التونيكامَيْسين (Tunicamycin) والديوكسي نوجيريمَيْسين (Deoxynojirimycin) والسوابنسونين (Swainsonine) وقد أُشير إلى التفاعلات التي تثبِّطها هذه المركبات في (الجدول 56-12). ويمكن استخدام هذه العوامل تجريبياً لتثبيط مراحل مختلفة من التخليق الحيوي للبروتينات السكرية، ولدراسة تأثيرات التبدلات النوعية في هذه العملية. فعلى سبيل المثال، إذا نمت الخلايا بوجود التونيكامَيْسين، فلن يحدث ضم الجليكوزيل لبروتيناتها السكرية ذات الارتباط – N بشكل سوي. وتبين في بعض الحالات، أن عدمَ ضم الجليكوزيل يؤدي إلى زيادة قابلية هذه البروتينات للتحلل البروتيني. ويبدو أن تثبيطَ ضم الجليكوزيل لا يكون له تأثير مناسب لإفراز البروتينات السكرية التي تفرز بشكل سوي. ولا تؤثر مثبطات معالجة البروتينات السكرية، بما في ذلك تلك المدرجة في (الجدول 56-12)، في التخليق الحيوي للبروتينات السكرية ذات الارتباط ــ O. ويمكن منع إطالة السلاسل ذات الارتباط ــ O بوساطة بنزيل ــ GalNAc. حيث يتنافس هذا المركب مع الركائز البروتينية السكرية الطبيعية وبذلك يمنع نمو السلسلة إلى ما وراء GalNAc.

المثبط	موضع التأثير
التونيكامَيْسين	تثبط ناقلة GlcNAc-P، وهي المُحفِّزة لإضافة GlcNAc إلى فسفات الدوليكول، وهي الخطوة الأولى في التخليق الحيوي لقليل سكريد ثنائي فسفوريل الدوليكول
ديوكسي نوجيريميسين	مثبط الجلوكوزيداز I و II
السوابنَسُونين	مثبط المانوزيداز II

الجدول 56-11 : المثبطات الثلاثة للإنزيمات المشتركة في ضم الجليكوزيل إلى البروتينات السكرية ومواضع تأثيرها

تتثبت بعض البروتينات بالغشاء البلازمي بوساطة بنى الجليكوزيل فسفاتيديل الإينوزيتول:

تشكل البروتينات السكرية المرتبطة بالجليكوزيل فسفاتيديل الإينوزيتول (GPI) الصف الرئيسي الثالث من البروتينات السكرية. وتشترك بنية GPI (التي تدعى أحياناً بالقدم اللزجة) في ارتباط إنزيم أسيتيل كولين إستيراز (إستيراز ACh) بالغشاء البلازمي لكريات الدم الحمراء، كما هو مبين في (الشكل 56-1). وتتثبت (أو ترتكز) البروتينات المرتبطة بالـ GPI بالوريقة الخارجية للغشاء البلازمي بوساطة الأحماض الدهنية لفسفاتيديل الإينوزيتول (PI). ويرتبط PI عن طريق الجلوكوزامين ($GlcNH_2$) بسلسلة الجليكان التي تحوي سكاكر مختلفة (مثل Man، $GlcNH_2$). وبدورها، تكون السلسلة قليلة السكريد مرتبطة عن طريق فسفوريل الإيثانولامين برابطة أميدية بالحمض الأميني في النهاية الكربوكسيلية من البروتين المتثبت أو المرتبط. ويحوي لب معظم بنى GPI جزيئاً واحداً من فسفوريل الإيثانولامين وثلاث ثمالات Man وجزيئاً من $GlcNH_2$ وجزيئاً من فسفاتيديل الإينوزيتول، كما يلي:

Ethanolamine-phospho ⟶ 6Manα1 ⟶ 2Manα1 ⟶ 6Manα1 ⟶ GlcNα1 ⟶ 6-*myo*-*inositol*-1-phospholipid

وتوجد مكونات أخرى إضافية في العديد من بنى GPI، فعلى سبيل المثال، تحوي تلك المبينة في (الشكل 56-1) فسفوريل إيثانولامين إضافيا مرتبطا بوسط أجزاء المانّوز الثلاث في الجليكان وتحوي كذلك حمضا دهنيا إضافيا مرتبطا بـ $GlcNH_2$. .وما تزال الأهمية الوظيفية لهذه الاختلافات بين البنى غير مفهومة. وقد اكتشف هذا النمط من الارتباطات لأول مرة باستخدام الفسفوليباز C الجرثومي النوعي لفسفاتيديل الإينوزيتول (PLC-PI)، والذي تبين أنه يحرر بروتينات معينة من الغشاء البلازمي للخلايا بوساطة شطر الرابطة المشار إليها في (الشكل 56-1) وهناك أمثلة على بعض البروتينات التي تتثبت وفقاً لهذا النمط من الارتباط في (الجدول 56-13).

* أسيتيل كولين إستراز (غشاء الكرية الحمراء).
* الفسفاتاز القلوية (الأمعاء، المشيمة).
* العامل المسرع للبلى (للاضمحلال) (غشاء الكرية الحمراء).
* 5´– نوكليوتيداز (اللمفاويات T وخلايا أخرى).
* المستضد Thy-1 (الدماغ، اللمفاويات T).
* البروتين السكري السطحي المتغاير (المثقبيات البروسية)

الجدول 13-56 : بعض البروتينات المرتبطة بـ GPI.

وقد اقترحت ثلاث وظائف محتملة على الأقل لهذا النمط من الارتباط:

(1) قد يسمح المرتكز (المثبت أو المرساة) GPI بحركة جيدة تماماً للبروتين في الغشاء البلازمي بالمقارنة مع تلك الملاحظة للبروتين الذي يحوي تسلسلات عابرة للغشاء. وهذا ليس غريباً على الأغلب، لأن مرتكز GPI يرتبط بالوريقة الخارجية من الطبقة المضاعفة الشحمية، بحيث يكون حراً في الانتشار أكثر من البروتين المرتكز عن طريق كلتا الوريقتين في الطبقة المضاعفة الشحمية. وقد تكون الحركة الزائدة مهمة في تسهيل الاستجابات السريعة للمنبهات المناسبة.

(2) وقد تتصل بعض مرتكزات GPI بسبل تنبيغ الإشارة.

(3) وتبين أن بنى GPI تستطيع أن توجه بروتينات معينة إلى المناطق القمية للغشاء البلازمي لبعض الخلايا الظهارية. ويعد التخليق الحيوي لمرتكزات GPI معقداً ويبدأ في الشبكة الهيولية الباطنة. وتتجمع مرتكزات GPI بشكل مستقل بسلسلة من التفاعلات المحفزة إنزيمياً ثم تنقل إلى النهاية الكربوكسيلية لبروتينها المستقبل، بالترافق مع شطر الببتيد الكاره للماء في النهاية الكربوكسيلية لذلك البروتين. وتدعى هذه العملية أحياناً **بالنقش (Glypiation)**. وهناك عيب مكتسب في المرحلة الأولية من التخليق الحيوي لبنية GPI متورط في إحداث **بيلة الهيموجلوبين الليلية الانتيابية** (انظر لاحقاً).

تشترك البروتينات السكرية في العديد من العمليات البيولوجية وفي العديد من الأمراض:

كما هو مبين في (الجدول 56-1) يكون للبروتينات السكرية وظائف مختلفة عديدة، فبعضها جرى عرضه في هذا الفصل وذكر بعضها الآخر في مكان آخر في هذا الكتاب (مثل الجزيئات الناقلة والجزيئات المناعية والهرمونات). وسنناقش هنا بإيجاز مساهمتها في عمليتين أساسيتين ـ الإخصاب والالتهاب. بالإضافة إلى ذلك، سنتطرق أيضاً بشكل مختصر لأسس عدد من الأمراض التي تنجم عن شذوذات في تخليق أو تدرك البروتينات السكرية.

البروتينات السكرية مهمةٌ في الإخصاب:

لكي تصل النطفة للغشاء البلازمي للخلية البيضية، فإن عليها أن تجتاز المنطقة الشفافة (Zona pellucida ; ZP)، وهي غلاف غير خلوي شفاف وسميك يحيط بالخلية البيضية. وتحوي المنطقة الشفافة ثلاثة بروتينات سكرية ZP1-3، ويحظى ZP3 بأهمية خاصة، وهو بروتين سكري ذو ارتباط – O يعمل كمستقبل للنطفة.

ويتآثر البروتين على سطح النطفة، وهو على الأرجح ناقلة الجالاكتوزيل، بشكل نوعي مع السلاسل قليلة السكريد لـ ZP3، وذلك في بعض الأنواع على الأقل (مثل الفأر). ويقوم هذا التآثر من خلال إشارة عابرة للغشاء بتحريض تفاعل الجسيم الطرفي (Acrosomal)، الذي تتحرر منه الإنزيمات مثل البروتياز والهيالورونيداز والمحتويات الأخرى في الجسيم الطرفي للنطفة. ويساعد تحرر هذه الإنزيمات النطفة على المرور خلال المنطقة الشفافة لتصل إلى الغشاء البلازمي للخلية البيضية. وتبين لدى حيوان القَداد (Hamster) أن هناك بروتين سكري آخر هو PH-30 يلعب دورا ذا أهمية في ربط الغشاء البلازمي للنطفة مع الغشاء البلازمي للخلية البيضية واندماجهما بعد ذلك. وتسمح هذه التآثرات للنطفة بأن تدخل وتخصب الخلية البيضية. وقد يكون من الممكن تثبيط الإخصاب بتطوير أدوية أو صادات حيوية تعاكس الوظائف السوية لـ ZP3 و PH-30، والتي يمكن بذلك أن تعمل كعوامل مانعة للحمل.

تلعب السيليكتينات أدواراً أساسية في الالتهاب وفي استقرار اللمفاويات:

تلعب الكريات البيض أدواراً هامة في العديد من الظواهر الالتهابية والمناعية. والخطوات الأولى في العديد من هذه الظواهر هي التآثرات بين الكريات البيض الدورانية والخلايا البطانية قبل خروج الكريات البيض من الدوران. وقد أظهر بحث أجري لتحديد الجزيئات النوعية على سطوح الخلايا المساهمة في مثل هذه التآثرات بأن الكريات البيض والخلايا البطانية تحوي على سطوحها ليكتينات نوعية تسمى السيليكتينات (Selectins) وتشارك في تلاصقها بين الخلوي. ويوجز (الجدول 14-56) مظاهر الصفوف الرئيسية الثلاثة للسيليكتينات. والسيليكتينات هي بروتينات عبر غشائية وحيدة السلسلة رابطة لأيونات الكالسيوم تحوي عدداً من المناطق (الشكل 10-56). وتحوي نهاياتها الطرفية الأمينية منطقة ليكتينية تشترك في الارتباط مع لجائن سكرية نوعية.



الشكل 10-56 : مخطط يوضح بنية السيليكتين – L عند الإنسان. يحوي القسم خارج الخلوي حقلاً (Domain) مطرافياً أمينياً مماثلاً لليكتينات من النمط C، وحقلاً مجاوراً شبيهاً بعامل النمو البشروي. ويلي ذلك عدد مختلف من القطاعات الشبيهة بمنظمات المتممة (الدوائر المرقمة) وتسلسل عابر للغشاء (المعين الأسود). ويتوضع تسلسل هيولي قصير (المستطيل الفارغ) عند النهاية الكربوكسيلية. وتكون بنى السيليكتين – P والسيليكتين – E مشابهة لما هو مرسوم باستثناء أنهما يحويان حقولاً منظمة للمتممة أكثر. ويكون عدد الأحماض الأمينية في السيليكتينات – L و –P و –E على ضوء ما تم استنتاجه من تسلسلات الدنا المتمم (cDNA) هو 385 و 789 و 589 على الترتيب.

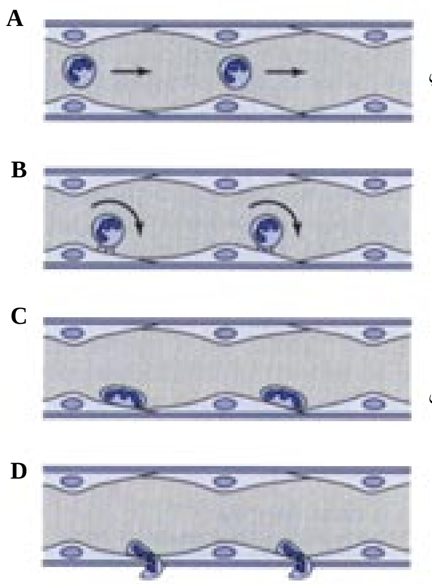
الجزئ	الخلية	اللجائن
السيليكتينات		
السيليكتين –L	الكريات البيض مفصصة النوى (PMN)، اللمفاويات	Gly- CAM-l, CD34.[1] سياليل – لويس X وغيرها.
السيليكتين – P	الخلية البطانية، الصفيحات	اللجين 1 للبروتين السكري السيليكتين P(PSGL-l) سياليل – لويس X وغيرها
السيليكتين –E	الخلية البطانية	سياليل لويس X وغيرها
الإنتجرينات		
LFA-l	الكريات البيض مفصصة النوى، اللمفاويات	ICAM-2 ، ICAM-1 (CDlla/CD18)
Mac-l	الكريات البيض مفصصة النوى	ICAM-1 وغيرها (CD1 1b/CD18)
طائفة الجلوبولينات المناعية		
ICAM-1	اللمفاويات، الخلية البطانية	LFA-1, Mac-1
ICAM-2	اللمفاويات، الخلية البطانية	LFA-1
PECAM-1	الخلية البطانية، الكريات البيض مفصصة النوى، اللمفاويات	صفيحات مختلفة

الجدول 14-56 : بعض الجزيئات المساهمة في التآثرات بين الخلايا البطانية والكريات البيض.

1 هذه لجَائن للسيليكتين – L من اللمفاويات ، ولم يحدد بعد لجين السيليكتين – L من العَدلات.

المفتاح : CD : مجموعة التمايز ؛ ICAM :جزيء الالتصاق بين الخلايا ؛ LFA-1 : المستضد –1 المرتبط بوظيفة اللمفاويات ؛ PECAM-1: الجزيء –1 الخلوي لالتصاق الصفيحات بالخلايا البطانيَّة.

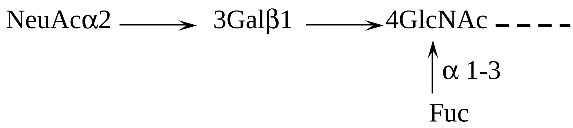
يعتقد أن التصاق العدلات بالخلايا البطانية للوريدات ما بعد الشعرية يحدث في أربع مراحل، كما هو مبين في (الشكل 56-11). حيث تنجح المرحلة الأساسية الأولية من خلال إبطاء أو التفاف العدلات بتواسط السيليكتينات. ويسهم في ذلك تآثرات بين السيليكتين ـ L على سطح العدلات و CD34 و GlyCAM-1 أو مع بروتينات سكرية أخرى على سطوح الخلايا البطانية. وتكون هذه التآثرات النوعية قصيرة العمر بشكل أولي، ويكون كامل الارتباط ذا ألفة منخفضة نسبياً مما يسمح بالالتفاف أو التدوير. ومع ذلك فإنه خلال هذه المرحلة، يحدث تنشيط للعدلات بمختلف الوسائط الكيميائية (يناقش لاحقاً)، مما يؤدي إلى تغيير في شكل العدلات وتقوية التصاق هذه الخلايا بالبطانة. وهناك مجموعة أيضاً من جزيئات الالتصاق تشترك في تثبيت الالتصاق، بخاصة LFA-1 و Mac-1 على العدلات و ICAM-1 وICAM-2 على الخلايا البطانية. ويعد LFA-1 و Mac-1 من الإنتجرينات CD11/CD18 (انظر الفصل 60 للاطلاع على مناقشة الإنتجرينات)، في حين يعد ICAM-1 و ICAM-2 عضوين في طائفة الجلوبولينات المناعية. أما المرحلة الرابعة فهي هجرة العدلات عبر الجدار البطاني. ولكي يحدث ذلك، تقوم العدلات بغرز أرجل كاذبة في المواصل بين الخلايا البطانية، وتقحم نفسها عبر هذه المواصل، وتعبر الغشاءَ القاعدي، لتصبح بعد ذلك حرة في الهجرة في الفراغ خارج الوعائي. وقد تبين أن جزيئات التصاق الصفيحات والخلايا البطانية (PECAM-1) تتوضع على مواصل الخلايا البطانية. ولذلك لها دور في الهجرة. وقد وجد أيضاً أن هناك العديد من الجزيئات الحيوية المشاركة في تنشيط العدلات والخلايا البطانية، بما فيها عامل النخر الورمي ـ ألفا والإنترلوكينات المختلفة والعامل المنشِّط للصفيحات (PAF) واللوكوترايين ـ بيتا 4 وبعض أقسام المتممة. وتنبه هذه المركبات العديد من سبل تنبيغ الإشارة، مما يؤدي إلى تبدلات في شكل الخلية ووظيفتها، ويكون بعضها أيضاً من عوامل الجذب الكيميائي. والتبدل الوظيفي المهم هو تزويد السطح الخلوي بالسيليكتينات، كما أنه في بعض الحالات تكون السيليكتينات مخزنة في حبيبات (كما في الخلايا البطانية والصفيحات).



الشكل 56-11 : مخطط يوضح تآثر العدلات والخلايا البطانية. A : الحالة الأساسية: لا تلتصق العدلات بالجدار الوعائي. B: الحادثة الأولى هي إبطاء أو التفاف العدلات ضمن الوعاء (الوريد) بتواسط السيليكتينات. C: ويؤدي حدوث التنشيط إلى التصاق العدلات بقوة على سطوح الخلايا البطانية وكذلك إلى تسطح في شكلها. وهذا يحتاج إلى تآثر الإنتجرينات CD18 المنشَّطة على العدلات مع ICAM-1 على البطانة. D : ثم تهاجر العدلات عبر المواصل في الخلايا البطانية إلى النسيج الخلالي، ويحتاج ذلك إلى اشتراك PECAM-1؛ ويساهم الجذب الكيميائي في هذه المرحلة الأخيرة أيضاً.

تم تحديد الطبيعة الكيميائية الدقيقة لبعض اللجائن المساهمة في التآثرات بين السيليكتين واللجين وتربط جميع السيليكتينات الثلاثة قلائل السكريد المنضم إليها السياليل أو الفوكوزيل، وتربط بشكل خاص هذه الثلاثة كلها سياليل ـ لويس (الشكل 56-12)، وهو بنية موجودة في كل من البروتينات السكرية والشحميات السكرية. ولم يثبت حتى الآن ما إذا كان هذا المركب هو اللجين الفعلي الذي يعمل في الأحياء. وقد تكون الجزيئات الكبريتية، مثل السلفاتيدات (الفصل 16) هي

اللّجائن في بعض الحالات. وتستخدم هذه المعلومة الأساسية في محاولات تخليق مركبات تحاصر التآثرات بين السيليكتين واللجين وبذلك يثبط الاستجابة الالتهابية. وتتضمن هذه الطرائق إعطاء أضداد وحيدة النسيلة نوعية أو مضاهئات جرى تخليقها كيميائياً لسياليل ـ لويس حيث يربط كلاهما السيليكتينات. وغالباً ما تملك الخلايا السرطانية سياليل ـ لويس X وغيرها من لجائن السيليكتينات على سطوحها. ويعتقد أن هذه اللّجائن تلعب دوراً في غزو الخلايا السرطانية ونقائلها.



الشكل 12-56 : مخطط تمثيلي لبنية سياليل – لويس X

تشكل الشذوذات في تخليق البروتينات السكرية الأساس لبعض الأمراض :

يعرض (الجدول 56-15) عدداً من الحالات التي تكون فيها الشذوذات في تخليق البروتينات السكرية مهمة. وكما ذكرنا أعلاه، يبدي العديد من الخلايا السرطانية نماذج مختلفة من السلاسل قليلة السكريد على سطوحه؛ وقد يساهم بعضها في النقائل. وقد اكتشف وجود شذوذات في إنزيمات معالجة نوعية في كل من متلازمة **البروتين السكري معوز السكريات (CDGS) وفي تعدد نوى أرومات الحمر الوراثي مع إيجابية اختبار الانحلال بالمصل المُحَمَّض (HEMPAS)** وهو فقر دم بسوء تكون الحمر الوراثي من النمط II. وسيناقش داء الخلية ـ I بمزيد من التفاصيل لاحقاً وتصنف **البيلة الهيموجلوبينية الليلية الانتيابية** على أنها فقر دم معتدل مكتسب يتميز بوجود الهيموجلوبين في البول وينجم عن انحلال الكريات الحمراء، بخاصة في أثناء النوم. وقد تكون هذه الظاهرةُ الأخيرة ناجمة عن هبوط خفيف لباهاء (pH)

البلازما في أثناء النوم، مما يزيد القابلية للانحلال بوساطة جملة المتممة (الفصل 59).

الشذوذ	المرض
قد يكون ازدياد تفرع الجليكانات في سطح الخلية أو وجود لجائن السيليكتين مهماً في حدوث النقائل.	السرطان
عيوب في التخليق الحيوي للجليكانات – N (مثل الحالة الناجمة عن عوز ناقلة GlcNAc من النمط II أو إنزيمات الفسفومانوموتاز أو إنزيمات أخرى)، التي تؤثر بشكل خاص في الجملة العصبية المركزية	متلازمة البروتين السكري معوز السكريات (CDGS)[1]
شذوذات في بعض الإنزيمات (المانوزيداز II أو غيرها) المساهمة في التخليق الحيوي للجليكانات – N، المؤثرة بشكل خاص في غشاء خلايا الدم الحمراء.	(HEMPAS[2] MIM 224100)
عيب مكتسب في التخليق الحيوي لبنى GPI[3] للعامل المسرع للبلى (DAF و CD59).	بيلة الهيموجلوبين الليلية الانتيابية (MIM 311770)
عوز ناقلة فسفات GlcNAc يؤدي إلى تهديف شاذ لبعض الإنزيمات اليحلولية	داء الخلية I (MIM 252500)

الجدول 56-15 : بعض الأمراض الناجمة عن أو المرتبطة بشذوذات التخليق الحيوي للبروتينات السكرية

1 – تم التعرف على أربعة أنماط فرعية على الأقل (من I إلى IV) من هذه المتلازمة الناجمة عن عوز عدد من الإنزيمات. وتتأثر الجملة العصبية المركزية فيها جميعاً مما يشير إلى أهمية البروتينات السكرية المختلفة في التطور السوي لهذه الجملة. إن رقم MIM للنمط I من CDGS هو 212065.

2 – تعدد نوى أرومات الحمر الوراثي مع إيجابية اختبار الانحلال بالمصل المحمض (فقر دم ولادي بسوء تكون الحمر من النمط II). وهو شكل معتدل نسبياً من فقر الدم يعكس، جزئياً على الأقل، وجود بروتينات سكرية ذات سلاسل جليكان – N شاذة في أغشية الكريات الحمر، والتي تساهم في الاستعداد للانحلال الدموي

3 –جليكوزيل فسفاتيديل الإينوزيتول

والعيب الأساسي في بيلة الهيموجلوبين الليلية الانتيابية (PNH) هو اكتساب طفرات جسدية في الجين PIG-A (لجليكان فسفاتيديل الإينوزيتول من الصف A) في بعض الخلايا المكونة للدم. ويبدو أن ناتج هذا الجين هو الإنزيم الذي يربط الجلوكوز أمين إلى فسفاتيديل الإينوزيتول في بنية GPI (الشكل 56-1). لذلك، فإن البروتينات التي تثبتت برباط GPI تكون معوزة في غشاء الكرية الحمراء. وهناك بروتينان يحظيان بأهمية خاصة، هما **العامل المسرِّع للبلى (DAF)** وبروتين آخر يدعى CD59. وكلاهما يتآثران بشكل سوي مع بعض مكونات الجملة المتممة (الفصل 58) لمنع التأثيرات الحالة للدم لهذه الأخيرة. إلا أنه عند عوزهما، فإنه يمكن للجملة المتممة أن تؤثر في غشاء الكرية الحمراء لتسبب الانحلال الدموي. ويمكن تشخيص PNH بشكل بسيط نسبياً؛ الكريات الحمراء أكثر حساسية للانحلال في مصل سوي محمض إلى باهاء (pH) بقيمة 6.2 (اختبار هام Ham) يجري تنشيط جملة المتممة في هذه الظروف، أما الخلايا السوية فلا تتأثر. ويتوافر العديد من أساليب المعالجة يمكن استعمالها (مثل نقل الدم، والستيرويدات وزرع نقي العظام إن أمكن). ويلخص (الشكل 56-13) سببيات بيلة الهيموجلوبين الليلية الانتيابية.

ينجم داء الخلية ـ I الاشتمالية (الخلية I) عن تهديف خاطئ لإنزيمات اليحلولات (الجسيمات الحالّة):

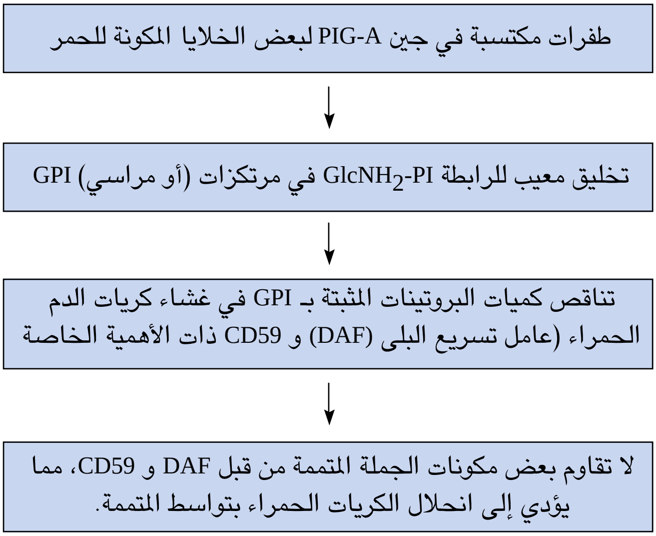
كما سبق وأشرنا، يعمل Man 6-P كواصم كيميائي لتهديف بعض إنزيمات الجسيمات الحالة (اليحلولات) إلى عضي ما. وقد لعب تحليل الأرومات الليفية المستنبتة المشتقة من أفراد مصابين بداء الخلية –I (خلية اشتمالية أو ضمنية) دوراً كبيراً في إظهار دور المانوز – 6 فسفات المذكور أعلاه.

وداء الخلية ـ I هو حالة غير شائعة تتميز بإعاقة حركية نفسية متقدمة شديدة وبعدد من العلامات الفيزيائية، مع حدوث الوفاة في العقد الأول من العمر غالباً. وقد تبين أن الخلايا المستنبتة المأخوذة من مصابين بداء الخلية ـ I تفتقر لجميع الإنزيمات اليحلولية السوية تقريباً مما يؤدى إلي قيام الجسيمات الحالة بتكديس

العديد من الأنماط المختلفة للجزيئات غير المتدركة مشكلة بذلك أجساماً اشتمالية أو ضمنية. وقد لوحظ أن عينات من بلازما المرضى بهذا الداء تحوي فعاليات عالية جداً للإنزيمات اليحلولية مما يعنى أنه تم تخليق هذه الإنزيمات فعلا ولكنها أخفقت في الوصول إلى غايتها الصحيحة داخل الخلية فتم إفرازها.

وقد لوحظ أن الخلايا المستنبتة المأخوذة من مرضى هذا الداء تستطيع أن تقبط الإنزيمات اليحلولية المضافة من مصدر خارجي من أفراد أسوياء، وهذا يشير إلى أن الخلايا تحوي مستقبلا سويا على سطوحها لتقبط التقامياً الإنزيمات اليحلولية. وبالإضافة لذلك، تقترح هذه الملاحظات أن الإنزيمات اليحلولية من المرضى بداء الخلية I قد تفتقر لواصم التعرف. وقد أظهر المزيد من الدراسات أن الإنزيمات اليحلولية من الأفراد الأسوياء تحمل واسم التعرف Man 6-P الذي نوقش سابقاً والذي يتآثر مع بروتين نوعي داخل خلوي هو مستقبل Man 6-P. ثم تبين أن الخلايا المستنبتة المأخوذة من المرضى بداء الخلية I تكون معوزة لفعالية ناقلة فسفو GlcNAcالمتوضعة في جهاز جولجي المقرون؛ وهذا يفسر كيف تفشل إنزيماتها اليُحلولية في اكتساب الواسم Man 6-P. ومن المعروف الآن أن هناك بروتينين مستقبلين Man6-P أحدهما بكتلة جزيئية كبيرة (275 ك.دالتون) والآخر بكتلة جزيئية صغيرة (46 ك.دالتون). وهذه البروتينات هي الليكتينات التي تتعرف على Man 6-P. ويكون الأول غير معتمد على الكاتيونات وهو يربط أيضاً IGF-II (لذلك يسمى مستقبلة Man 6-P-IGF-II)؛ أما الثاني فمعتمد على الكاتيونات في بعض الأنواع ولا يربط IGF-II. ويبدو أن كلا من هذين المستقبلين يعملان في الفرز داخل الخلوي للإنزيمات اليحلولية إلى الحويصلات المغطاة بالكلاثرين، التي توجد في جهاز جولجي المفروق وذلك بعد تخليق Man 6-P في جهاز جولجي المقرون. ثم تغادر هذه الحويصلات جهاز جولجي، وتنصهر مع حيز ما قبل يحلولي. وتسبب درجة الباهاء (pH) المنخفضة في هذا الحيز تفارق الإنزيمات اليحلولية عن مستقبلاتها فتدخل بالتالي إلى اليحلولات. وتعود المستقبلات إلى دورة عمل جديدة. ويعمل المستقبل الأصغر على التقام الإنزيمات اليحلولية خارج الخلوية فقط، وهذا

يعد السبيل الثانوي للتوضع اليحلولي. ولا تستعمل كل الخلايا مستقبلة Man 6-P لتهديف إنزيماتها اليحلولية (فمثلاً، تستعمل الخلايا الكبدية مسالك مختلفة لكنها غير محددة)؛ وعلاوة على ذلك لا تكون كل الإنزيمات اليحلولية مهدفة بهذه الآلية. لذلك فإن الاستقصاءات الكيميائية الحيوية لداء الخلية – I لم تقد فقط إلى توضيح أساسه لكنها ساهمت أيضاً بشكل واضح في معرفة كيف يتم تهديف البروتينات المتخلقة حديثاً إلى العضيات النوعية، وهي في هذه الحالة اليحلولات. ويلخص (الشكل 56-14) السبب في داء الخلية I.



الشكل 56-13 : مخطط حدوث البيلة الهيموجلوبينة الليلية الانتيابية.
(MIM 311770)

إن الحثل العديد الكاذب من نمط هيرلر (Pseudo-Hurler polydystrophy) هو مرض وراثي آخر قريب جداً من داء الخلية I. وهو أخف وطأة وقد يعيش المريض المصاب به حتى البلوغ. واقترحت الدراسات أن ناقلة فسفو GlcNAc المكتنف في داء الخلية I يمتلك عدة مناطق، بما فيها المنطقة التحفيزية والمنطقة التي تتعرف نوعياً وتتآثر مع الإنزيمات اليحلولية. وقد افترض أن يكون العيب في مرض الحثل

العديد الكاذب من نمط هيرلر متوضعاً في المنطقة الأخيرة؛ ويؤدي احتباس بعض الفعالية التحفيزية إلى حالة أقل شدة.

طفرات في الدنا (DNA)

↓

ناقلة فسفو GlcNAc طافرة

↓

عدم حدوث النقل السوي لثمالة GlcNAc1-P إلى ثمالات المانوز النوعية في بعض الإنزيمات الخاصة باليحلولات.

↓

تفتقر هذه الإنزيمات بالنتيجة للمانوز –6– فسفات وتفرز من الخلايا (مثلاً إلى البلازما) بدلاً من أن تهدف إلى اليحلولات

↓

لذلك تكون اليحلولات معوزة لبعض إنزيمات الهيدرولاز فلا تقوم بوظيفتها كما ينبغي، وتكدس بشكل جزئي المواد الخلوية المهضومة التي تتظاهر بشكل أجسام اشتمالية أو ضمنية.

الشكل 14-56 : ملخص حدوث مرض الخلية الاشتمالية (الخلية I).
(MIM 252500)

تسبب حالات العوز الوراثية لإنزيمات هيدرولاز البروتينات السكرية اليَحلولية أمراضا مثل الداء المانوزي ـ ألفا :

تخضع البروتينات السكرية، على غرار معظم الجزيئات الحيوية الأخرى، لكل من التخليق والتدرك (أي التقلب). ويتضمن تدرك السكاكر قليلة السكريد للبروتينات السكرية مجموعة من إنزيمات الهيدرولاز اليحلولية، بما فيها ألفا ـ

نورامينيداز وبيتا ـ جالاكتوزيداز وبيتا ـ هيكسوزامينيداز وألفا وبيتا ـ مانوزيداز، وألفا - N أسيتيل جالاكتوزامينيداز وألفا ـ فوكوزيداز، وبيتا- N أسيتيل جلوكوزامينيداز الداخلية وأسبارتيل جلوكوزامينيداز. وقد أشير إلى مواضع فعل الإنزيمين الأخيرين في التعليق على (الشكل 56-5). ويمكن أن تحدث عيوب محددة وراثياً في فعاليات هذه الإنزيمات مما يؤدي إلى تدرك شاذ للبروتينات السكرية. وقد يؤدي تراكم مثل هذه البروتينات السكرية المتدركة بشكل غير سوي في النسج إلى أمراض عديدة. ومن بين أكثر هذه الأمراض معرفة، نذكر **الداء المانّوزيدازي والداء الفوكوزيدازي والداء السيالي وبيلة أسبارتيل الجليكوزامين** وداء شندلر، الناجمة على الترتيب عن حالات عوز في ألفا ـ مانوزيداز، وألفا ـ فوكوزيداز، وألفا ـ نورامينيداز وأسبارتيل جلوكوزامينيداز وألفا N - أسيتيل جالاكتوزامينيداز. ولهذه الأمراض غير الشائعة نسبياً العديد من المظاهر أُدرج بعضها في (الجدول 56-16). وتشير الحقيقةُ القائلة إن جميع المرضى المصابين بهذه الاضطرابات يبدون علامات خاصة بالجملة العصبية المركزية، تشير إلى أهمية البروتينات السكرية في تطور هذه الجملة ووظيفتها السوية.

يمكن القول بناء على ما سبق إنه من الواضح أن البروتينات السكرية تساهم في عدد كبير من الأمراض والعمليات البيولوجية. وتلعب البروتينات السكرية أدواراً مباشرة أو غير مباشرة في عدد من الأمراض الأخرى، كما هو مبين من الأمثلة التالية: (1) تملك ڤيروسات النزلة الوافدة إنزيم النورامينيداز الذي يلعب دوراً أساسياً في شطف الذراري المتخلقة حديثاً من الخلايا المصابة بالعدوى. (2) يقوم HIV-1، الذي يعتقد من قبل العديد أنه العامل المسبب للإيدز (AIDS) بالارتباط بالخلايا عن طريق أحد بروتيناتها السكرية السطحية (gp120)s. (3) يترافق التهاب المفاصل الرثياني مع تبدل في عملية ضم الجليكوزيل لجزيئات الجلوبولينات المناعية جاما الدورانية (IgG) (الفصل 59)، وبذلك فهي تفتقر للجالاكتوز في مناطقها Fc وتنتهي بالسكر GlcNAc. ويقوم البروتين الرابط للمانوز (مع عدم الخلط مع مستقبل المانوز ـ 6 فسفات)، وهو ليكتين – C تخلقه خلايا الكبد وتفرزه إلى الدوران، يقوم بربط المانّوز و GlcNAc وبعض السكاكر الأخرى.

ولذلك يمكنه أن يربط جزيئات الجالاكتوزيل في IgG، التي تنشط بعد ذلك جملة

المتممة، فتساهم بذلك في الالتهاب المزمن في الأغشية الزليلية للمفاصل. ويستطيع هذا البروتين أيضاً أن يربط السكاكر السابقة عندما تكون موجودة على سطوح بعض الجراثيم والفطور والفيروسات فيحضرها لعملية الطهاية أو لتخريبها من قبل جملة المتممة. وهذا مثال عن المناعة الفطْرية التي لا تسهم فيها الجلوبولينات المناعية. ويؤدي عوز هذا البروتين عند صغار الأطفال، الناجم عن طفرة، إلى جعلهم مستعدين كثيراً لإصابتهم بعداوى متكررة. ويؤمل أن تقود الدراسات الأساسية للبروتينات السكرية وللمقترنات السكرية الأخرى (أي مجال بيولوجيا السكريات) إلى معالجات فعالة للأمراض التي تسهم فيها هذه الجزيئات.

الجدول 16-56 : المظاهر الرئيسة لبعض الأمراض (مثل الداء المانّوزيدازي – ألفا وبيتا والداء الفوكوزيدازي والداء السيالي وبيلة أسبارتيل الجليكوزامين ومرض شندلر) الناجمة عن عوز إنزيمات هيدرولاز البروتينات السكرية (1).

* تبدي عادة تخلفاً عقلياً أو شذوذات عصبية أخرى، وفي بعض الاضطرابات ملامح قاسية أو ضخامة حشوية (أو كليهما).
* تباينات في الوخامة تتراوح من الخفيفة إلى المتقدمة بسرعة.
* وراثة جسدية متنحية.
* قد تظهر توزعات عرقية (مثلاً، تكون بيلة أسبارتيل الجليكوزامين شائعةً في فنلندا).
* حدوث فجوات في الخلايا تلاحظ مجهرياً في بعض الاضطرابات.
* وجود نواتج تدرك شاذة (مثل قلائل السكريد التي تتراكم بسبب عوز إنزيمي في البول، يمكن كشفها بتكنولوجيا TLC وتمييزها بطريقة GLC-MS).
* يجري التشخيص الدقيق بمقايسة إنزيمات مناسبة، غالباً باستعمال الكريات البيض.
* إمكانية التشخيص قبل الولادة بمقايسات إنزيمية مناسبة.
* لا يوجد علاج محدَّد في الوقت الراهن.

(1) أرقام MIM هي: داء مانّوزيداز – ألفا : 248500 ؛ داء مانّوزيداز – بيتا : 248510 ؛ داء الفوكوزيداز : 230000 ؛ الداء السيالي: 256550 ؛ بيلة أسبارتيل الجليكوزامين 208400 ؛ داء شندلر: 104170 .

الخلاصة:

البـروتينات السكرية هي بروتينات واسـعـة الانتـشـار، مع اخـتـلاف واسـع في وظائفـهـا، وتحـوي واحدة أو أكثـر من السـلاسل السكرية المرتبطة بشكل تسـاهمي. وتتـراوح المكونات السـكرية لبـروتين سكري مـا من 1٪ إلى أكثـر من 85٪ من وزنه، وقـد يكون بسـيطاً أو مـعـقـداً جـداً في البنيـة. وترمـز السـلاسل قليلة السكريد للبروتينات السكرية المعلومات البيولوجية. وهذه السلاسل مهمة للبروتينات السكرية في تعديل ذوبانـهـا ولزوجتـهـا، وفي حمـايتـهـا ضـد التحلل البروتيني، وفي أفعالهـا البيولوجية، وفـي مشـاركتـهـا في التـآثرات الخلوية ـ الخلوية السـوية والشـاذة (مثل تآثر النطفـة والبـيـضـة، والتطور، والسـرطان، على التـرتيب). ويمكن توضـيـح بنى العديد من السـلاسل قليلة السكريد بوسـاطة الاسـتـشراب الغـازي السـائلي، وتنظيـر طيـف الكتلـة، وتنظيــر الطيف بـالرنـين المغنـاطيــسـي النـووي (NMR). ويقـــوم الجليكوزيداز الداخلي والخـارجي بحلمـهـة الروابط النوعـيـة في قـلائل السـكريد، وتسـتـعـمل هذه الإنزيمات لدراسـة كل من بنى البـروتينات السـكرية ووظائفـهـا. والليكتينات هـي بـروتينات تربط واحـداً أو أكثـر من السكاكر النوعـيـة لسـلاسل قليلة السكريد ولذلك تتـواسط الالتصـاق الخلوي وغيـرها من العمليات البيولوجية. وتكون الصـفـوف الرئيـسـيـة من البـروتينات السـكرية ذات الارتبـاط – O (التي تحـوي هيدروكسـي السـيرين أو الثـريونين) أو الارتبـاط – N (التي تحـوي مجـموعـة أميد الأسبـاراجين)، والمرتبطة بجليكوزيل فسـفاتيديل الإينوزيتول (GPI). وتعد الموسينات صـفـاً من البـروتينـات السكرية ذات الارتبـاط – O التي تتـوزع على سطوح الخـلايا الظهارية في السبل التنفسية والمعدية المعوية والتناسلية.

يلعب جـهـاز جولجي دوراً رئيسـياً في تفـاعلات ضم الجليكوزيل التي تسـاهم في التـخليق الحـيـوي للبـروتينـات السكرية. ويجـري تخليق قـلائل السكريد المعـقـدة للبروتينات السكرية ذات الارتباط – O بإضـافة تدريجية للسكاكر المعطاة من سكاكر النوكليوتيدات في تفـاعـلات تحـفزهـا نـاقلات جليكوزيل البروتينات السكرية النوعـيـة المنفـردة. وبالمقـابل يتـضـمن التـخليق الحـيوي للبروتينـات السكرية ذات الارتبـاط –N متـوسطات شـحـمـيـة وإنزيمات الجلوكوزيداز. ويقـوم قليل سكريد ثنـائي فسـفـوريل الدوليكول بإعطاء سلسلة قليلة السـكريد إلى السلسـة البروتينية عندمـا تعبـر غشـاء

الشبكة الهيولية الباطنة. ثم تتقطع السلسلة قليلة السكريد ويعاد بناؤها في جهاز جولجي مع إضافة سكاكر خارجية مختلفة على نحو مشابه للسكاكر الخارجية في قلائل السكريد ذات الارتباط ـO. وبحسب الإنزيمات والطلائع البروتينية التي يخلقها نسيج ما، فإنه يمكن تخليق أنماط من قلائل السكريد ذات الارتباط – N معقدة أو هجينة أو غنيَّة بالمانّوز.

تساهم البروتينات السكرية في العديد من العمليات البيولوجية. فمثلاً، يساهم البروتين السكري ZP3 الموجود في المنطقة الشفافة في التآثر بين النطفة والبيضة الناضجة. وتبين أيضاً أن مجموعة من الليكتينات المسماة السيليكتينات تلعب أدواراً مهمة في تآثرات العدلات واللمفاويات مع الخلايا البطانية (الالتهابات). ويساهم اللجين السكري سياليل لويس في بعض هذه التآثرات. وقد ينجم عن هذه الموجودات إيجاد طرائق جديدة لمنع الحمل ومعالجات جديدة للالتهاب.

جرى التعرف على عدد من الأمراض تتضمن شذوذات في تخليق وتدرك البروتينات السكرية. وغالباً ما تبدي البروتينات السكرية السطحية الخلوية للخلايا السرطانية النقيلية اختلافات في بنى قلائل السكريد فيها بالمقارنة مع تلك الموجودة في الخلايا السوية. ويبدو أن العيوب في تخليق البروتينات السكرية تساهم في متلازمة البروتين السكري معوز السكريات، وفي داء HEMPAS، وفي البيلة الهيموجلوبينية الليلية الانتيابية. وفي داء الخلية ـ I، لا تكون بروتينات أغشية اليحلولات مهدفة بشكل دقيق إلى اليحلول بسبب غياب إشارة تعريفهم Man 6-P نتيجة العوز المحدد وراثياً لناقلة فسفو GlcNAc. وهناك بعض الأمراض الأخرى النادرة نسبياً الناجمة عن حالات عوز وراثية في فعالية إنزيمات الهيدرولاز اليحلولية النوعية للبروتينات السكرية. وهي تضم الداء المانّوزيدازي ـ ألفا وبيتا والداء الفوكوزيدازي والداء السيالي وبيلة أسبارتيل الجليكوزامين وداء شندلر. وتساهم البروتينات السكرية أيضاً في العديد من الأمراض الأخرى، مثل الإنفلونزا (النزلة الوافدة) والإيدز والتهاب المفاصل الروماتويدي.

*** References:**

Beaudet AL,Thomas GH: Disorders of glycoprotein degradation and structure : α-mannosidosis, β-mannosidosis fucosidosis, sialidosis, aspartylglycosaminuria, and carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome In*: the Metabolic and Molecular Bases of inherited Disease*,7th ed. Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill,1995.

Brockhausen I. Kuhns W: *Glycoproteins and Human Disease*. Chapman and Hall,1997.

Drickamer K,Taylor ME: Biology of animal lectins, *Annu Rev Cell Biol* 1993;9:37.

Englund PT: The structure and biosynthesis of glycosy1 phosphatidyl-inositol protein anchors. *Annu Rev Biochem* 1993;62:291.

Fiedler K,Simons K: The role of-N-glycans in the secretory pathway. *Cell* 1995;81:309.

Kornfeld R, Kornfeld S: Assembly of asparagine-linked oligosaccharides. *Annu Rev Biochem* 1985;54:631.

Kornfeld S, Sly WS.I-cell disease and pseudo-Hurler polydystrophy: Disorders of lysosomal enzyme phosphorylation. In: *the metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease* 7th ed. Scriver CR et al (editor) McGraw-Hill,1995.

Lasky LA: Selectin-carbohydrate interactions and the initiation of the inflammatory response. *Annu Rev Biochem* 1995;64:113.

Rini JM: Lectin structure *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 1995;24:551.

Schachter H et al Defective glycosyltransferases are not good for your health. *Adv Exp Med Biol* 1998;435;9.

Schachter H: Enzymes associated with glycosylation. *Curr Opin struct Biol* 1991;1:755.

Strous GJ, Dekker J: Mucin-type glycoproteins. *CRC crit Rev Biochem Mol Biol* 1992;27:57.

الفصل السابع والخمسون

المطرس خارج الخلوي

The Extracellular Matrix

مقدمة:

الخلية هي الوحدة الأساسية للحياة. وتتوضع معظم خلايا الثدييات داخل أنسجة، وتحاط الخلايا بمطرس (Matrix) معقد خارج خلوي من الأنسجة ما يدعى «النسيج الضام» (Connective tissue). ويقوم هذا المطرس بضروب مختلفة من الوظائف الهامة ـ ستشرح لاحقاً ـ إضافة لقيامه بدور السقالة الداعمة (Scaffolding) للخلايا التي يحيط بها. ويحتوي المطرس خارج الخلايا على ثلاثة صفوف رئيسية من الجزيئات الحيوية : (1) البروتينات البنيوية كالكولاجين (Collagen) والإيلاستين (Elastin) والفبريلين (Fibrillin) ؛ (2) وبعض البروتينات المتخصصة كالفبريلين والفبرونكتين (Fibronectin) واللامينين (Laminin)، التي تقوم بوظائف نوعية داخل المطرس؛ (3) والبروتيوجليكانات (Proteoglycans) التي تتألف من الجليكوز أمينُوجليكانات (GAGs) سلاسل طويلة من ثنائيات السكريد التكرارية (كانت تدعى سابقاً عديدات السكريد المخاطية (Mucopolysaccharides)) مرتبطة ببروتينات لبية نوعية. ويشرح هذا الفصل الكيمياء الحيوية الأساسية لهذه الصفوف الثلاثة من الجزيئات الحيوية، ويوضح أهميتها البيولوجية الحيوية.

كما يتعرض بشيء من الإيجاز إلى الخصائص الكيميائية الحيوية الرئيسية لشكلين متخصصين من المطرس خارج الخلايا، العظم والغضروف، ولعدد من الأمراض فيهما.

الأهمية البيولوجية الحيوية:

يزداد الانتباه للمطرس خارج الخلوي مع زيادة إدراكنا لأدواره الهامة في الكثير من العمليات السوية والباثولوجية. فخلال مراحل التطور، يجب أن تهاجر بعض الخلايا المضغية (Embryonic cells) مسافات معتبرة عبر المطرس خارج الخلايا لتجد أمكنتها النهائية المحددة. وتشمل الحالات الالتهابية الحادة والمزمنة عدة تغيرات في الكيمياء الحيوية للمطرس خارج الخلايا. ولكي تنتقل الخلايا السرطانية، يجب أن تنفصل أولاً عن العضو أو النسيج الذي نشأت منه، وتهاجر عبر المَطرس خارج الخلايا، ثم تدخل الأوعية الدموية الصغيرة أو الأوعية اللمفية. وهناك بينات هامة على مساهمة جزيئات المطرس خارج الخلايا في كل من التهاب المفاصل الروماتويدي والفصال العظمي (Osteoarthritis) (التهاب العظم والمفصل)، وهما من الأمراض الرئيسية في مجتمعاتنا. وتنجم أمراض عديدة (كتكون العظم الناقص (Osteogenesis imperfecta) وعدة أنماط من متلازمة إهلرز ـ دانلوس) عن اضطرابات وراثية في تخليق الكولاجين. وتؤدي الأعواز الوراثية لإنزيمات الحلمهة الموجودة في اليحلولات (الجسيمات الحالة) والمسؤولة عن تدرك الجليكوز أمينوجليكانات (GAGs) إلى حدوث عدد من الأمراض يسببها اضطراب تدرك الجليكُوز أمينوجليكانات وتراكمها الشاذ لاحقاً في الأنسجة المختلفة. تسمى هذه الأمراض أدواء عديدات السكريد المخاطية، نسبة للاسم الذي كان يطلق على الجليكوز أمينوجليكانات. وأخيراً، يبدو واضحاً أن هناك العديد من التغيرات التي تطرأ على المطرس خارج الخلايا خلال عملية التَّشَيُّخ (كبر السن). ولم يثبت الادعاء بامتلاك بعض مستحضرات التجميل والتزويق لتأثيرات مضادة للتَّشَيُّخ تمارسها عبر التأثير بالكولاجين والمقومات الأخرى للمَطرس خارج الخلايا.

الكولاجين هو البروتين الأكثر وفرة في عالم الحيوان:

يشكل الكولاجين (Collagen)، وهو المكون الأساسي لمعظم الأنسجة الضامة، نحو 25 ٪ من البروتين في الثدييات. وهو يؤمن الهيكل خارج الخلوي لكافة الحيوانات التوالي (Metazoan)، ويوجد في كل نسيج حيواني تقريباً. وقد كشف في

جسم الإنسان نحو 19 نمطاً متميزاً من الكولاجين تتكون من نحو 30 سلسلة ببتيدية متميزة (تُرَمَّزُ بالعدد نفسه من جينات الكولاجين). ومع أن الكثير من هذه الأنماط لا توجد إلا بنسب صغيرة، فإنه يمكن أن تلعب أدواراً هامة في تعيين الخصائص الفيزيائية للأنسجة. وهناك العديد من البروتينات (كالمكون C1q في جملة المتممة والبروتينات الفاعلة بالسطح (Surfactant) الرئوي: SP-A و SP-D (التي لم تصنف على أنها كولاجينات رغم أنها تمتلك حقولاً شبيهة بالكولاجين في بناها، وتدعى بالكولاجينات «غير الكولاجينية» (Noncollagen" collagens).

ويلخص (الجدول 57-1) أنماط الكولاجينات الموجودة في الأنسجة البشرية، ويتضمن التعليق عليه طريقة تسميتها والجينات المرمّزة لسلاسلها الببتيدية.

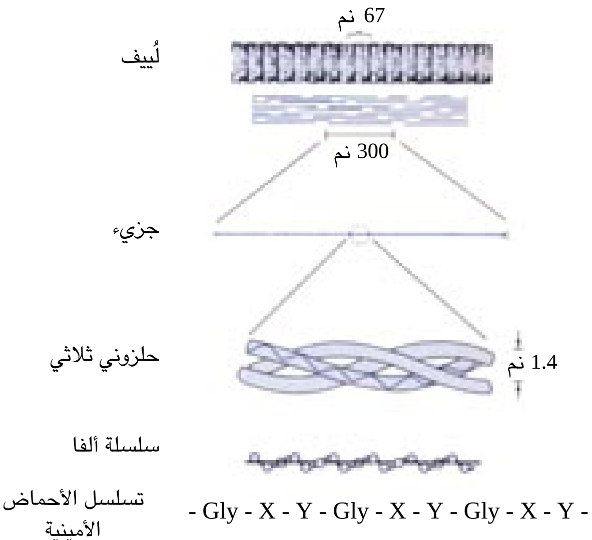
يمكن تصنيف الأنماط التسعة عشر من الكولاجينات المذكورة آنفاً إلى عدد من الصفوف اعتماداً على البنى التي تشكلها بشكل أساسي (الجدول 57-2). وسنركز في هذا الفصل بشكل رئيسي على الكولاجينات المشكلة للييفات من النمطين I و II (النمطان الرئيسيان في الجلد والعظم وفي الغضروف على الترتيب). ولكن سنذكر بعض الكولاجينات الأخرى عند الضرورة.

يتكون النمط الأول من الكولاجين من بنية حلزونية ثلاثية ويشكل لُيَيْفات:

تمتلك كافة أنماط الكولاجين بنية حلزونية ثلاثية (Triple helix) تشكل كامل الجزيء في بعض الكولاجينات، أو جزءاً فقط من بنية بعضها الآخر. وينتمي النمط الأول من الكولاجين إلى المجموعة الأولى ويحتوي على نحو 1000 حمض أميني، وتلتوي فيه كل وحيدة ببتيدية (أو سلسلة ألفا) بشكل حلزون يساري تتضمن اللفة منه ثلاث ثمالات أمينية (الشكل 57-1). بعد ذلك، تلتف ثلاث من السلاسل ألفا السابقة لتشكل حلزوناً فائقاً يميني التوجه يأخذ بنية شبيهة بالنبوت (عصوية) بقطر 1.4 نم وبطول يصل نحو 300 نم. والخاصية المميزة للكولاجين هي وجود ثمالات الجليسين عند كل موضع ثالث من الجزء الحلزوني الثلاثي للسلسلة ألفا. وهذا ضروري، لأن الجليسين هو الحمض الأميني الوحيد الذي يكون حجمه صغيراً بما

يكفي لتوضعه في الحيز المحدود الذي يتوفر أسفل اللب المركزي من الحلزون الثلاثي. وتكون هذه البنية التكرارية، والتي تمثل بالشكل $(Gly\text{-}X\text{-}Y)_n$، شرطاً أساسياً وضرورة مطلقة لتشكيل الحلزون الثلاثي. وفي حين يمكن لأي حمض أميني أن يكون في الموضعين X و Y، إلا أننا نجد أن نحو 100 من المواضع X يسكنها البرولين ونحو 100 من المواضع Y يسكنها هيدروكسي البرولين. ويعطي هذان الحمضان الأمينيان لجزيء الكولاجين صلابته.

يتشكل هيدروكسي البرولين بإضافة الهيدروكسيل إلى ثمالات البرولين المرتبطة بالببتيد في تفاعلات تتم بعد الترجمة ويحفزها إنزيم هيدروكسيلاز البروليل الذي يتطلب كلاً من حمض الأسكوربيك (الفيتامين C) وألفا – كيتوجلوتارات كتمائم عاملة (Cofactors) وقد تتحور ثمالات الليسين في الموضع Y أيضاً بعد الترجمة إلى هيدروكسي الليسين بتوسط هيدروكسيلاز الليسيليل، الإنزيم الذي يتطلب العوامل المساعدة نفسها. ويمكن أن تتحور بعض ثمالات هيدروكسي الليسيل هذه بإضافة الجالاكتوز أو جالاكتوزيل الجلوكوز وتشكيل الرابطة الجليكوزيدية – O، ويكون موضع إضافة الجليكوزيل هذا مميزاً للكولاجين حصراً.



الشكل 57-1: الملامح الجزيئية لبنية الكولاجين من تسلسل البنية الأولية حتى الليف.
[نم = نانومتر]

النسيج	الجينات	النمط
معظم الأنسجة الضامة، بما في ذلك العظم	*COLIA2, COLIA1*	I
الغضروف، الخلط الزجاجي	*COL2A1*	II
الأنسجة الضامة القابلة للتمدد كالجلد والرئة والجهاز الوعائي	*COL3A1*	III
الأغشية القاعدية	*COL4A1-COL4A6*	IV
كمية بسيطة في الأنسجة التي تحتوي على الكولاجين I	*COL5A1-CoL5A3*	V
معظم الأنسجة الضامة	*COl6A1-Col6A3*	VI
اللييفات المُثَبِّتَة	*COL7A1*	VII
البطانة، الأنسجة الأخرى	*COL8A1 - COL8A2*	VIII
مع الكولاجين II	*COL9A1-COL9A3*	IX
الغضروف المتضخم	*COL10A1*	X
مع الكولاجين II	*COL11A1,COL2A1, COL11A2*	XI
مع الكولاجين I	*COL1A1*	XII
العديد من الأنسجة	*COL13A1*	XIII
مع الكولاجين I	*COL14A1*	XIV
العديد من الأنسجة	*COL15A1*	XV
العديد من الأنسجة	*COL16A1*	XVI
أنصاف الجسيمات الرابطة (Hemidesmosomes) الجلدية	*COL17A1*	XVII
العديد من الأنسجة (كالكبد والكلية)	*COL18A1*	XVIII
خلايا الساركومة العضلية المخططة	*COL19A1*	XIX

الجدول 57-1 : أنماط الكولاجين وجيناتها[2].

1– تمت الإشارة لأنماط الكولاجين بالأحرف الرومانية. أما سلاسل الكولاجين الطليعية المكونة (التي تدعى السلاسل الطليعية ألفا) فقد رقمت بالأرقام العربية، ثم أتبع نمط الكولاجين من سلسلتين طليعيتين ألفا 1 (I) وسلسلة ألفا 2 (II)، وبذلك يكون ثلاثي قسيمات متغاير. وتتركب طليعة النمط الثاني من الكولاجين من ثلاث سلاسل طليعية ألفا 1 (II)، وبذلك فهو ثلاثي قسيمات متجانس. وتسمى جينات الكولاجين حسب نمط الكولاجين، ويُعَبَّرُ عنها بأرقام عربية تدل على رمز الجين يتلوها الحرف A فالرقم الذي يدل على عدد السلاسل الطليعية ألفا التي ترمِّزها، وبذلك فإن الجينَين COL1A1 وCOL1A2 يرمزان السلاسل ألفا 1 وألفا 2 للكولاجين من النمط الأول على الترتيب.

النمط	الصف
XI ، V ، III ، II ، I	المُشَكِّلة لليبفات
X ، VIII ، IV	الشبيهة بالشبكة
XIX ، XVI ، XIV ، XII ، IX	FACITs[2]
Vi	خيوط سبحية
VII	لييفات الإرساء
XVII ، XIII	حقل عابر للغشاء
XVIII ، XV	أشكال أخرى

الجدول 57-2 : تصنيف الكولاجينات حسب البنى التي تشكلُها.

FACITs[2] = الكولاجينات المرتبطة باللييفات مع حلزونات ثلاثية متقطّعة.

تتجمع أنماط الكولاجين التي تشكل أليافاً عصوية طويلة في الأنسجة بالارتباط الجانبي لهذه الوحدات الحلزونية الثلاثية بشكل ارتصاف «ربعي» (Quarter)، بحيث ينزاح كل منها طولانياً عن جواره بمقدار أقل من ربع طوله (الشكل 57-1، الجزء العلوي). وهذا الترتيب هو المسؤول عن المظهر الشريطي لهذه الألياف في الأنسجة الضامة. وتتثبت ألياف الكولاجين أكثر بتشكيل روابط تساهمية تصالبيّة ضمن الوحدات الحلزونية الثلاثية وفيما بينها. وتتشكل هذه الروابط من خلال فعل أكسيداز الليسيل، الإنزيم المعتمد على النحاس الذي ينزع أمين المجموعة الأمينية -ε [إبسيلون] من بعض ثمالات الليسيل وهيدوكسي الليسيل بالأكسدة، معطياً ألدهيدات نشطة يمكنها أن تشكل نواتج تكاثف الألدول بتكاثفها مع الألدهيدات الأخرى المشتقة من الليسيل أو هيدروكسي الليسيل، أو أن تشكل أسس شيف

(Schiff bases) مع المجموعات الأمينية إبسيلون لثمالات الليسين أو هيدروكسي الليسين غير المؤكسدة. وتؤدي هذه التفاعلات بعد المزيد من إعادة الترتيب الكيميائي إلى روابط تصالبية تساهمية مستقرة، تلعب الدور الأهم في القوى التوترية للألياف.

هناك عدة أنماط من الكولاجين لا تشكل لييفات داخل الأنسجة (الجدول 57-2). وتتصف بوجود مناطق من السلسلة الببتيدية التي تفتقر إلى المتواليات التكرارية Gly-X-Y تتخلل مناطق الحلزون الثلاثي. وتؤدي هذه المناطق غير الحاوية على Gly-X-Y إلى تشكيل أجزاء ذات بنية كروية تتناثر بين مناطق البنية الحلزونية الثلاثية.

والنمط الرابع من الكولاجين، أفضل مثال مميَّز للكولاجينات ذات الحلزونات الثلاثية غير المستمرة، وهو أحد مكونات الأغشية القاعدية الهامة، حيث يشكل بنية شبكية.

يخضع الكولاجين لعمليات تحوير واسعة بعد الترجمة:

يخضع الكولاجين المخلق حديثاً بعد ترجمته إلى تحويرات واسعة قبل أن يصبح جزءاً من الليف الكولاجيني الناضج خارج الخلايا (الجدول 57-3). ويجري تخليق الكولاجين ـ كمعظم البروتينات المفرزة ـ على الريباسات بشكل طليعي (سلف الكولاجين (Preprocollagen)) يحتوي على متوالية قيادية أو إشعارية (Leader or signal sequence) توجه السلسلة الببتيدية إلى الحيز الصهريجي للشبكة الهيولية الباطنة حيث تنزع هناك المتوالية بوساطة إنزيمية بمجرد دخولها، ويضاف الهيدروكسيل إلى ثمالات البروليل والليسيل، ويضاف الجليكوزيل إلى ثمالات هيدروكسي الليسيل في جزيء طليعة الكولاجين. ويحتوي جزيء طليعة الكولاجين على امتدادات عديدة الببتيد (ببتيدات الامتداد: Extension peptide) بوزن 20-35 ك. دالتون عند نهايتيه الطرفيتين الأمينية والكربوكسيلية لا يحتوي الكولاجين الناضج على أي منها. وتحتوي ببتيدات الامتداد على ثمالات السيستين. وفي حين يشكل ببتيد الامتداد في النهاية الأمينية لطليعة الكولاجين روابط ثنائية السلفيد بين

ثمالات السلسلة الواحدة فقط، يقوم ببتيد الامتداد في النهاية الكربوكسيلية بتشيكل روابط ثنائية السلفيد داخل السلسلة ومع السلاسل الأخرى. ويساعد تشكيل هذه الروابط على تسجيل جزيئات الكولاجين الثلاثة التي ستشكل الحلزون الثلاثي بدءاً من النهاية الطرفية الكربوكسيلية. وبعد تشكيل الحلزون الثلاثي، لا تحدث أية إضافة للهيدروكسيل (إلى البروليل أو الليسيل) أو الجليكوزيل (إلى هيدروكسي الليسيل). ويعد التجميع الذاتي مبدأ أساسياً في التخليق الحيوي للكولاجين.

داخل الخلايا:

1 – شطر الببتيد الإشعاري (القيادي).

2 – إضافة الهيدروكسيل (هدركسلة) إلى ثمالات البروليل وبعض ثمالات الليسيل الموجودة في المواضع Y، وربط الجليكوزيل إلى بعض ثمالات هيدروكسي الليسيل.

3 – تشكيل روابط ثنائية السلفيد داخل السلسلة وبين السلاسل في ببتيدات الامتداد (Extension peptides).

4 – تشكيل الحلزون الثلاثي.

خارج الخلايا:

1 – شطر طلائع الببتيد في النهاية الأمينية والكربوكسيلية.

2 – تجميع ألياف الكولاجين في ارتصاف ربعي (Quarter).

3 – نزع الأمين التأكسدي من المجموعات الأمينية إبسيلون لثمالات الليسيل وهيدروكسي الليسيل وتحويلها إلى ألدهيدات.

4 – تشكيل روابط تصالبية داخل السلسلة وبين السلاسل بواسطة أسس شيف ونواتج تكاثف الألدول.

الجدول 57-3 : ترتيب أحداث معالجة سلف الكولاجين الليفي وموضعها.

وبعد الإفراز من الخلية بواسطة جهاز جولجي، تقوم إنزيمات خارج الخلايا تدعى أمينوبروتيناز طليعة الكولاجين وكربوكسي بروتيناز طليعة الكولاجين بنزع ببتيدات الامتداد عند النهاية المطرافية الأمينية والكربوكسيلية على الترتيب، الأمر

الذي يمكن أن يحدث ضمن خبايا (Crypts) أو طيات في الغشاء الخلوي. وبمجرد نزع هذه الببتيدات الطليعية، تتجمع جزيئات الكولاجين ذات البنية الحلزونية الثلاثية المحتوية على نحو 1000 حمض أميني في كل سلسلة وتركب الألياف الكولاجينية بشكل تلقائي. وتكتسب هذه الألياف المزيد من الثبات من خلال تشكيل الروابط التصالبية داخل السلاسل وفيما بينها بفعل أكسيداز الليسيل، كما هو موصوف آنفاً.

إن الخلايا نفسها التي تفرز الكولاجين تفرز الفيبرونكتين (Fibronectin) أيضاً، وهو بروتين سكري كبير يوجد على السطوح الخلوية وفي المطرس خارج الخلايا والدم (انظر لاحقاً). ويرتبط الفيبرونكتين بألياف متكدسة من سلف الكولاجين ويغير حرائك تشكيل الألياف في المطرس حول الخلايا. ويرتبط بالفيبرونكتين وطليعة الكولاجين في هذا المطرس كل من سلفات الهيباران (Heparan sulfate) وسلفات الكُنْدرُويتين (Chondroitin sulfate) (انظر لاحقاً)، وهما من البروتيوجليكانات. وفي الحقيقة، يحتوي النمط التاسع من الكولاجين (من الغضروف) على سلاسل بروتيوجليكانية مرتبطة. ويمكن أن تفيد مثل هذه التآثرات في تنظيم تشكيل ألياف الكولاجين وتعيين توجهها داخل الأنسجة.

وعندما يتشكل الكولاجين يكون مستقراً نسبياً من الناحية الايضية، ولكن يزداد تحطمه خلال المخمصة ومختلف الحالات الالتهابية. ويحدث إنتاج زائد للكولاجين في عدد من الاضطرابات كالتشمع الكبدي.

ينجم عدد من الأمراض الوراثية عن شذوذات في تخليق الكولاجين:

يُرمز نحو 30 جيناً الكولاجين، وسبيل تخليقه الحيوي معقد جداً يشمل ثماني خطوات محفزة إنزيمياً على الأقل تجري بعد الترجمة. وهكذا، ليس من المدهش أن عدداً من الأمراض (الجدول 57-4) تنجم عن طفرات في جينات الكولاجين أو في الجينات المرمزة لبعض الإنزيمات المساهمة في هذه التحويرات بعد الترجمة. وسندرس الأمراض التي تؤثر في العظم والغضروف لاحقاً في هذا الفصل.

تشمل متلازمة إهلرز ـ دانلوس (Ehlers-Danlos syndrome) مجموعة من

الاضطرابات الوراثيـة مـلامـحـهـا السـريرية الرئيـسـيـة هي فـرط سـحـوبيـة (Extensibility) الجلد وهشاشة نسيجية شاذة وزيادة حركية المفاصل، وصورتها السريرية متباينة بطريقة تعكس التغاير الوراثي الواسع الذي يقف خلفها. وقد أمكن كشفs 11 نمطاً على الأقل، يعكس معظمها ضروباً من الخلل في تخليق الكولاجين. ويعد النمط الرابع أخطرها بسبب الميل نحو التمزق العفوي للشرايين أو الأمعاء، مما يشير إلى شذوذات في النمط الثالث من الكولاجين. ويبدي المصابون بالنمط السادس (عوز هيدروكسيلاز الليسيل) زيادة مفرطة وواضحة في حركية المفاصل وميلاً نحو تمزق المقلة. ويؤدي عوز إنزيم أمينوبروتيناز طليعة الكولاجين ـ والمُسبب لتشكل لُييفات كولاجينية رقيقة وغير منتظمة ـ إلى متلازمة إهلرز ـ دانلوس من النمط VIIC الذي يتظاهر بفرط حركية المفاصل الواضحة والجلد اللين.

تشير متلازمة ألبورت (Alport syndrome) إلى عدد من الاضطرابات الوراثية (المرتبطة بالجنس والجسدية) التي تصيب بنية ألياف الكولاجين من النمط الرابع (الكولاجين الرئيسي الموجود في الأغشية القاعدية للكبيبات الكلوية) (انظر اللامينين لاحقاً). ولقد أُثبتت طفرات في عدة جينات مُرَمِّزة لألياف النمط الرابع من الكولاجين. وتكون العلامة التي يأتي بها المريض هي البيلة الدموية، وقد يحدث لدى المرضى داء كلوي في مرحلته النهائية. ويظهر المجهر الإلكتروني شذوذات نموذجية في بنية الغشاء القاعدي والصفيحة الكثيفة.

يتمزق الجلد وتظهر نفاطات (Blisters) نتيجة رضوض بسيطة في انحلال البشرة الفقاعي (Epidermolysis bullosa) وينجم الشكل الحثلي من هذا الداء (Dystrophic) عن طفرات في الجين COL7A1 تؤثر في بنية النمط السابع من الكولاجين الذي يعطي لُييفات مرهفة (Delicate) تربط الصفيحة القاعدية إلى لُييفات الكولاجين في الأدمة. وقد تبين أن لُييفات الإرساء هذه تنقص بشكل واضح في هذا الشكل من المرض وتؤدي إلى ظهور النفاطات. أما انحلال البشرة الفقاعي البسيط فينجم عن طفرات في الكيراتين 5 (الفصل 58).

يؤثر البثع (Scurvy) في بنية الكولاجين. وينجم هذا المرض عن عوز حمض الأسكوربيك (الفيتامين "C") (الفصل 52)، وهو ليس مرضاً وراثياً. وتكون علاماته الرئيسية هي نزف اللثة والنزوف العفوية وضعف شفاء الجروح، وهي تعكس

اضطراباً في تخليق الكولاجين بسبب نقص نشاط هيدروكسيلاز البروليل أو هيدروكسيلاز الليسيل (كلاهما يحتاجان حمض الأسكوربيك كعامل مساعد).

الجين أو الإنزيم	المرض [1]
COL1A2, COL1A1	تكون العظم الناقص (النمط الأول)[2] (MIM 1566200). تخلخل العظام[3] (MIM 166710). متلازمة إهلرز – دانلوس (النمط VII)، جسدية سائدة (MIM 130060).
COL2A1	خلل التأنسجة الغضروفي الشديد. الفصال العظمي[3] (MIM 120140).
COL3A1	متلازمة إهلرز ـ دانلوس (النمط IV) (MIM 130050) .
COL4A3 - COL4A6	متلازمة ألبورت (Alport) (الشكلين الكروموسومي الجسدي والمرتبط بالجنس) (MIM 104200).
COL7A1	انحلال البشرة الفقاعي الحثلي (MIM 131750).
COL10A1	شذوذ الأنسجة الغضروفي الكُردوسي لشميد (Schmid) (MIM 156500) .
هيدروكسيلاز الليسيل	متلازمة إهلرز – دانلوس (النمط VI) (MIM 225400) .
أمينوبروتيناز طليعة الكولاجين	متلازمة إهلرز – دانلوس (النمط VII) وراثة كروموسومية جسدية متنحية (MIM 225410).
هيدروكسيلاز الليسيل	داء مينكيس[4] "Menkes" (MIM 309400) .

الجدول 57-4 : الأمراض الناجمة عن طفرات في جينات الكولاجين أو عن نقص نشاط إنزيمات ما بعد الترجمة المساهمة في التخليق الحيوي للكولاجين

1 ـ ثبت الارتباط الوراثي بجينات الكولاجين في بضع حالات أخرى لم تُدرج هنا . 2 ـ كشفت أربعة أنماط على الأقل من تكون العظم الناقص، وأغلب الطفرات في كافة الأنماط تكمن في الجينين COL1A1 و COL1A2. 3 ـ يطلق في الوقت الحاضر على عدد صغير نسبياً من هؤلاء المرضى. 4 ـ ثانوي لعوز النحاس (الفصل 59).

يمنح الإيلاستين خاصيتي السحوبية (قابلية التمدد) والارتداد لأنسجة الرئتين والأوعية الدموية والأربطة:

الإيلاستين (Elastin) هو أحد بروتينات النسيج الضام المسؤولة عن السحوبية والارتداد المرن في الأأنسجة. ومع أنه غير موجود على نطاق واسع كالكولاجين، لكنه يوجد بكميات كبيرة لاسيما في الأنسجة التي تتطلب هذه الخصائص الفيزيائية كالرئتين والأوعية الدموية الشريانية الكبيرة وبعض الأربطة المرنة. كما توجد مقادير أبسط منه في الجلد وغضروف الأذن وعدة أنسجة أخرى. وعلى النقيض من الكولاجين، يبدو أنه ذو نمط وراثي واحد فقط، مع أنه تنشأ ضروب مختلفة منه نتيجة لاختلاف معالجة جزيئات الرنا النووي المتغاير (hnRNA) الخاص بالإيلاستين (الفصل 39). ويُخَلَّق الإيلاستين كموحود ذواب بوزن 70 ك. دالتون يدعى «طليعة الإيلاستين» أو «التروبوإيلاستين» (Tropoelastin). ويضاف الهيدروكسيل إلى بعض ثمالات البروليل في التروبوإيلاستين لتشكيل هيدروكسي البروليل بتوسط هيدروكسيلاز البروليل. وبخلاف الكولاجين، لا يحتوي الإيلاستين على هيدروكسي الليسيل أو هيدروكسي الليسيل المرتبط بالجليكوزيل؛ ولا يُخَلَّق التروبوإيلاستين بشكل طليعي يحوي ببتيدات الأمتداد؛ كما لا يحتوي الإيلاستين على المتواليات Gly-X-Y التكرارية أو البنية الحلزونية الثلاثية أو الثمالات السكرية.

بعد إفرازه من الخلية، يجري نزع الأمين لبعض ثمالات الليسيل تأكسدياً لتشكيل الألدهيدات بتوسط أكسيداز الليسيل، الإنزيم نفسه الذي يساهم في هذه العملية في الكولاجين. ولكن الروابط المتصالبة الرئيسية المتشكلة في الإيلاستين هي الديزموزينات (Desmosines) التي تنجم عن تكاثف ثلاثة من هذه الألدهيدات المشتقة من الليسيل مع ثمالة ليسيل غير مُحوَّرة لتكوين رابطة تصالبية رباعية الوظيفة خاصة بالإيلاستين. وعندما يصبح الإيلاستين ذو الروابط المتصالبة بشكله الناضج هذا خارج الخلية، يكون ذواباً بشدة ومستقراً كثيراً وذا معدل تقلب منخفض جداً، ويبدي الإيلاستين ضروباً مختلفة من الهيئات الوشيعية العشوائية التي تسمح للبروتين بالتمدد ثم الارتداد خلال قيامه بوظائفه الفيزيولوجية.

يلخص (الجدول 57-5) الفروق الرئيسية بين الكولاجين والإيلاستين.

الإيلاستين	الكولاجين
نمط جيني واحد	1- عدة أنماط جينية مختلفة.
لا يوجد حلزون ثلاثي، وإنما هيئات وشيعية عشوائية تسمح بالتمدد.	2 - حلزون ثلاثي.
غير موجودة.	3 - البنية التكرارية (Gly-X-Y)n.
غير موجود.	4 - وجود هيدروكسي الليسيل.
غير موجود.	5 - يحتوي على السكريات.
روابط تصالبية ديزموزينية داخل الجزيء	6 - وجود روابط تصالبية ألدولية داخل الجزيء.
لا توجد ببتيدات التمديد خلال التخليق الحيوي.	7 - وجود ببتيدات تمديد خلال التخليق الحيوي.

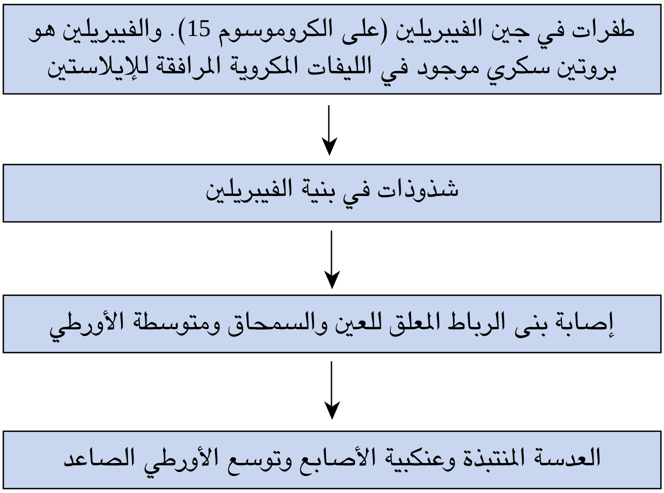
الجدول 5-57 : الفروق الأساسية بين الكولاجين والإيلاستين.

لقد وجدت حالات خَبْن (Deletion) في جين الإيلاستين (المتوضع في7q11.23) في نحو 90٪ من المصابين بمتلازمة ويليامز (Williams syndrome)، وهي اضطراب تطوري يصيب النسيج الضام والجملة العصبية المركزية. وربما يكون لهذه الطفرات دورها السببي في التضيق الأورطي فوق الصمامي، الذي يرافق هذه الحالة غالباً، وذلك من خلال التأثير في تخليق الإيلاستين. ويترافق عدد من الأمراض الجلدية (كتصلب الجلد) مع تراكم الإيلاستين. ويوجد تشظي الإيلاستين أو نقصه بدلاً من ذلك في بعض الاضطرابات الأخرى كالنفاخ الرئوي (Emphysema) وتهدل الجلد (Cutis laxa) وتشيخ الجلد.

تنجم متلازمة مارفان عن طفرات في الجين المرمز للفيبريلين، البروتين الموجود في اللييفات المكروية:

متلازمة مارفان (Marfan syndrome) هي داء وراثي شائع نسبياً يصيب النسيج الضام ويورَّث كخلَّة كروموسومية جسدية سائدة. ويصيب العينين (يحدث خلع العدسة مثلاً، وهو ما يدعى باسم انتباذ العدسة (Ectopia lentis)) والجهاز الهيكلي (لمعظم المرضى قامة وأصابع طويلة [عنكبية الأصابع (Arachnodactyly)] ويعانون من فرط سحوبية المفاصل) والجهاز القلبي الوعائي (كإحداثه لضعف في الأبهر يقود إلى توسع جزئه الصاعد). وربما كان أبراهام لنكولن يعاني من هذا المرض. وتنجم معظم الحالات عن طفرات في جين الفيبريلين (على الكروموسوم 15)، وقد كشفت طفرات مُغَلِّطة (Missense mutations) مختلفة في عدد من المصابين بمتلازمة مارفان.

الفيبريلين (Fibrillin) بروتين سكري كبير (نحو 350 ك. دالتون) يعمل كمكون بنائي لللييفات الدقيقة، وهي ألياف بقطر 10-12 نم توجد في الكثير من الأنسجة. ويُفرَز الفيبريلين (بعد الشطر الحال للبروتين) إلى المطرس خارج الخلايا من قبل الأرومات الليفية، وينجبل مع اللييفات الدقيقة غير الذوابة التي يظهر أنها تعمل كسقالة لتوضع الإيلاستين. وفيما يخص متلازمة مارفان، يوجد الفيبريلين في الألياف النطيقية (Zonular) للعدسة وفي السمحاق، والألياف المرنة في الأبهر (وفي أماكن أخرى)، وتفسر هذه المواقع انتباذ العدسة وعنكبية الأصابع والمشاكل القلبية الوعائية الموجودة في هذه المتلازمة. كما توجد بروتينات أخرى (كالإيميلين (Emelin) والبروتينين المرتبطين باللييفات المكروية) في هذه اللييفات المكرويّة، ويبدو من المحتمل أن تؤدي شذوذاتها إلى اضطرابات أخرى في النسيج الضام. ويوجد جين آخر للفيبريلين على الكروموسوم 5، وترتبط الطفرات في هذا الجين بإحداث عنكبية الأصابع التقفعية الولادية وليس بمتلازمة مارفان. ويلخص (الشكل 57-2) التسلسل المحتمل للأحداث المؤدية إلى متلازمة مارفان.



الشكل 2-57 :طفرات في جين الفيبريلين (على الكروموسوم 15). والفيبريلين هو بروتين سكري موجود في الليبيفات المكروية المرافقة للإيلاستين

الفيبرونكتين بروتين سكري هام يساهم في التصاق الخلايا وهجرتها:

يعد الفيبرونكتين (Fbrinectin) أحد البروتينات السكرية الأساسية في المَطرس خارج الخلايا، كما يوجد بشكل ذواب في البلازما. وهو يتألف من وحيدتين متماثلتين، كل منهما بوزن 230 ك. دالتون تقريباً، مرتبطتين بجسرين ثنائيي السلفيد قرب نهايتيهما الكربوكسيلية. والجين المُرمِّز للفيبرونكتين كبير جداً ويحتوي على نحو 50 إكسوناً، ويتعرض الرنا (RNA) المنتج بانتساخ الجين هذا إلى تضفير بديل معتبر، وقد أمكن كشف زهاء العشرين من جزيئات الرنا المرسال (mRNA) المختلفة في الأنسجة. ويحتوي الفيبرونكتين على ثلاثة أنماط من البُنى التكرارية (I و II و III) تنتظم في حقول وظيفية (7 على الأقل) وتشتمل وظائف هذه الحقول على ربط الهيبارين (انظر لاحقاً) والفيبرين والكولاجين والدنا (DNA) بسطح الخلية (الشكل 3-57).

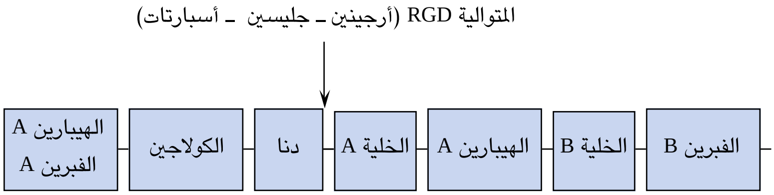
وقد أمكن اشتقاق متوالية الأحماض الأمينية لمستقبل الفيبرونكتين على الأرومات الليفية، وتبين أنه أحد عناصر صف بروتينات الإنتجرين (Integrin) العابرة للغشاء (الفصل 60). وتعد الإنتجرينات مثنويات غيرية (Heterodimers) تحتوي على أنماط مختلفة من السلاسل الببتيدية ألفا و بيتا.

ويحتوي الفيبرونكتين على التسلسل Arg-Glu-Asp أو ما يرمز له بالرمز (RGD) الذي يرتبط بالمستقبل. ويوجد التسلسل RGD في العديد من بروتينات المطرس خارج الخلايا الأخرى التي ترتبط بالإنتجرينات الموجودة على السطوح الخلوية. وتثبط الببتيدات التخليقية التي تحتوي على التتابع RGD ارتباط الفيبرونكتين بالسطوح الخلوية.

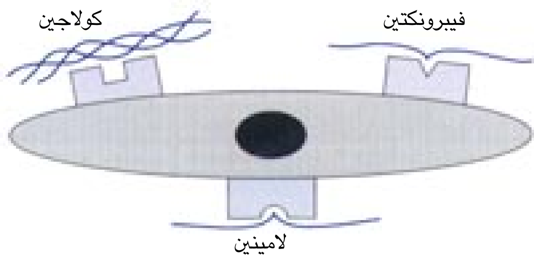
ويبين (الشكل 5-4) تآثر الكولاجين والفيبرونكتين واللامينين ـ البروتينات الرئيسية في المطرس خارج الخلايا ـ مع خلية نموذجية (كالأرومة الليفية) موجودة في المَطرس خارج الخلايا.

يتآثر مستقبل الفيبرونكتين بشكل غير مباشر مع الخيوط الدقيقة للأكتين (الفصل 58) الموجودة في العصارة الخلوية (الشكل 57-5). ويساهم في ذلك عدد من البروتينات تدعى بروتينات الارتكاز (Attachment proteins) وتشمل كلاً من التالين (Talin) والڤنكولين (Vinculin) والبروتين المُقَلنس لخيط الأكتين والأكتينين ـ ألفا. ويتآثر التالين مع المستقبل والڤنكولين اللذين يتآثران مع الأكتين. ويعطي تآثر الفيبرونكتين مع مستقبله وسيلة يتواصل من خلالها خارج الخلية مع داخلها، ومن ثم فهو يؤثر في سلوك الخلية.

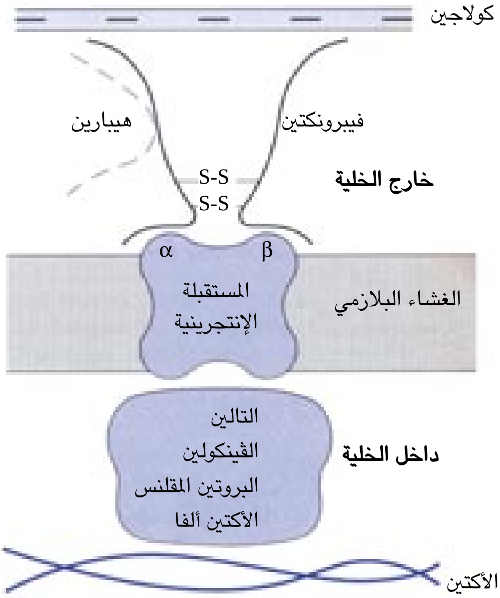
ويلعب الفيبرونكتين ـ من خلال تآثره مع مستقبله الخلوي ـ دوراً هاماً في التصاق الخلايا بالمطرس خارج الخلوي. كما يساهم في هجرة الخلايا من خلال تأمين موضع ارتباط لها يساعدها على إيجاد طريقها عبر المطرس. وينقص مقدار الفيبرونكتين بشدة حول العديد من الخلايا المتحولة (سرطانية). وربما يفسر ذلك جزئياً التآثر الخاطئ لهذه الخلايا مع المطرس خارج الخلايا (الفصل 62).



الشكل 57-3 : ترسيم للفيبرونكتين. جرى تمثيل سبعة حقول وظيفية رئيسية للفيبرونكتين: نمطان مختلفان من الحقول لكل من الهيبارين ولارتباط الخلايا وللفيبرين. وتتكون الحقول من توليفات مختلفة لثلاثة نماذج بنيوية (I و II و III) غير مرسومة في الشكل. كما لا يظهر في الشكل حقيقة أن الفيبرونكتين هو مثنوية مرتبطة بجسور ثنائية السلفيد قرب النهايات الكربوكسيلية للمواحيد. وقد أشير بسهم إلى الموقع التقريبي للتسلسل RGD في الفيبرونكتين، والذي يتآثر مع ضرب مختلف من مستقبلات الإنتجرين الخاصة بالفيبرونكتين على السطوح الخلوية.



الشكل 57-4 : ترسيم لخلية متآثرة بواسطة مستقبلات الإنتجرينات المختلفة مع كل من الكولاجين والفيبرونكتين واللامينين الموجودة في المطرس خارج الخلوي (لم يشر إلى الوحيدات النوعية).



الشكل 57-5 : ترسيم للفيبرونكتين وهو يتآثر مع مستقبلة الفيبرونكتين الإنتجرينية المتوضع على سطح الغشاء البلازمي لخلية من المطرس خارج الخلايا ومع عدد من بروتينات الارتكاز المختلفة المتآثرة بشكل غير مباشر أو مباشر مع خيط الأكتين الدقيق في العصارة الخلوية. وقد جرى تمثيل بروتينات الارتكاز بشكل معقد واحد بهدف التبسيط.

اللامينين مكون بروتيني رئيسي للصفيحة القاعدية الكلوية الكبيبية ولغيرها من الصفائح القاعدية:

تعد الصفائح القاعدية (Basal laminae) مناطق متخصصة من المطرس خارج الخلايا تحيط بالخلايا الظهارية وبعض الخلايا الأخرى (كالخلايا العضلية)، وسندرس هنا الصفائح الموجودة في الكبيبة الكلوية. وفي هذه البنية، يساهم في تشكيل الصفيحة القاعدية صفيحتان منفصلتان من الخلايا (إحداهما بطانية والأخرى ظهارية) تتوضعان على جانبي الصفيحة، وتشكل هذه الطبقات الثلاث الغشاء الكبيبي. المكونات الرئيسية للصفيحة القاعدية هي البروتينات الثلاثة

(اللامـــينين والإنتـــاكـــتين (Entactin) والنمط الرابع من الكولاجين) والجليكوز أمينوجليكان: الهيبارين (أو سلفات الهيباران). وتخَلِّقُ الخلايا المستبطنة هذه المكونات.

يتكون اللامينين (وزنه 350 ك. دالتون تقريباً وطوله 70 نم) من ثلاث سلاسل ببتيدية متطاولة ومتميزة (A و B_1 و B_2) مرتبطة مع بعضها بعضاً لتعطي شكلاً صليبياً متطاولاً. ويحتوي على مواضع ارتباط لكل من النمط الرابع من الكولاجين والهيبارين والإنتجرينات على السطوح الخلوية. ولا يتآثر الكولاجين بشكل مباشر مع السطح الخلوي وإنما مع اللامـــينين الذي يتـــآثر بدوره مع الإنتـــجـــرينات أو البروتينات الأخرى المستقبلة له، وبذلك يثبت الصفيحة إلى الخلايا.

الإنتاكتين (يدعى أيضاً النيدوجين (Nidogen)) هو بروتين سكري يحتوي على التسلسل RGD ويرتبط باللامينين ويشكل عامل ارتكاز الخلايا الرئيسي. وتقوم الصفيحة القاعدية الثخينة نسبياً للكبيبة الكلوية بدور هام في الترشيح الكبيبي حيث تنظم عبور الجزيئات الكبيرة (معظم بروتينات البلازما) من خلال الكبيبة إلى النُّبيب الكلوي.

يسمح الغشاء الكبيبي بمرور الجزيئات الصغيرة كالإينولين (2 ك. دالتون) عبره بسهولة كما الماء. ومن جهة أخرى، لا يعبر سوى مقدار صغير من بروتين الألبومين (69 ك. دالتون)، وهو البروتين البلازمي الرئيسي، من خلال الكبيبة السوية. ويُفَسَّر ذلك بمجموعتين من الحقائق:

1 – مسام الغشاء الكبيبي كبيرة بما يكفي للسماح للجزيئات التي تصل حتى نحو 8 نم بعبور الغشاء.

2 – الألبومين أصغر من حجم المسامات هذه، لكنه يمنع من العبور بسهولة بواسطة الشحنات السلبية لسلفات الهيباران وبعض البروتينات السكرية المحتوية على حمض السياليك والموجودة في الصفيحة.

تطرد هذه الشحنات السلبية الألبومين ومعظم البروتينات البلازمية التي تكون مشحونة سلبياً في باهاء (pH) الدم. وقد تتأذى البنية السوية للكبيبة بشدة في

بعض أنماط التــهـاب كـبـيـبـات الكلى (Glomerulonephritis) (كـذلك الناجـم عن الأضـداد الموجـهة نحـو مـختلف مكونات الـغشـاء الكبـيـبي). وينجم عن هذه الأذية تغـيـرات في المسـام ومـقـادير الجـزيئات الكبروية المشـحـونة سلبـيـاً المذكورة آنفاً ومواضعها، وبذلك تستطيع مقادير كبيرة نسبياً من الألبومين (ومن بعض البروتينات البلازمية الأخرى) أن تمر إلى البول (بيلة ألبومينية).

البروتيوجليكانات والجليكوز أمينوجليكانات:

تتكون الجليكوز أمـينوجليكانات الموجـودة في البـروتيـوجـليكانات من سكاكر ثنائية متكررة:

البروتيوجليكانات هي بروتينات تحتوي على جليكوز أمينوجليكانات مرتبطة معها بشكل تسـاهمي. وقد أصبحت خصـائص عدد منها معروفة وتم إعطاؤها أسـماء كالسنديكان (Syndecan) والبيتاجليكان (Betaglycan) والسيرجليسـين (Serglycin) والبــيــرليكان (Perlecan) والأجـريكان (Aggrecan) والڤـيــرسـيكان (Versican) والديكورين (Decorin) والبيجليكان (Biglycan) والفيبروموديولين (Fibromodulin).

تختلف هذه المركبات في توزعـها النسـيجي وطبيعة البروتين المركزي أو اللبي والجليكوز أمـينوجليكانات المرتبطة بهـا ووظيـفـتـهـا. وتدعى البـروتينات المرتبطة تسـاهميـاً مع الجليكوز أمينوجليكانات بالبروتينات اللبيـة (Core proteins)، ورغم صعوبة عزلها ووصفها فقد بدأ استعمال تكنولوجيا الدنا المأشوب بتقديم معلومات هامة عن بنيتها.

كمية السكريات في البروتيوجليكان عادة أكبر بكثير منها في البروتين السكري فـقـد تشكل نحـو 95 ٪ من وزنهـا. ويظهـر (الشكلان 57-6 و 57-7) البنيـة العـامـة لـلأجــريكان، وهو النمط الرئيــسي الموجــود في الغــضــروف. ويتــصف هـذا البروتيوجليكان بأنه كبير جداً (نحو 2×10^3 ك. دالتون) وله بنية إجمالية تشـبـه فرشـاة الزجاجة. ويحـتوي على طاق طويل من حمض الهيـالورونيك (Hyaluronic acid) (نمط من أنماط الجليكوز أمينوجليكانات) ترتكز إليه البروتينات الرابطة بشكل غير تسـاهمي. وتتآثر هذه الأخيرة بدورها بشكل غير تساهمي مع جزيئات البروتين

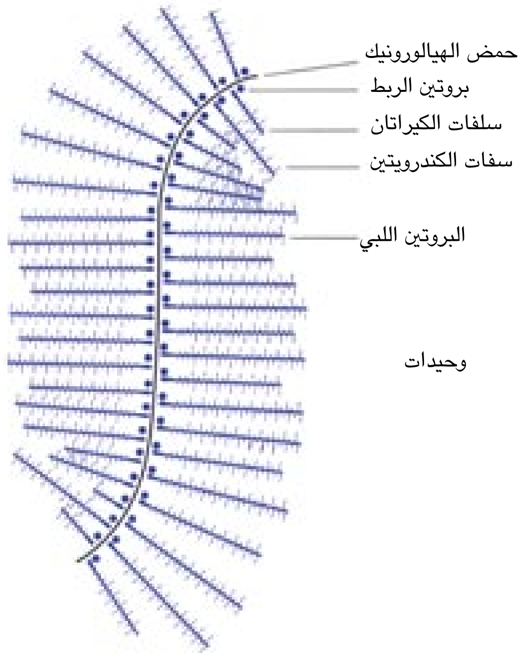
اللبي التي تتبارز منها سلاسل الجليكوز أمينوجليكانات الأخرى (سلفات الكيراتان وسلفات الكندرويتين في هذه الحالات). وسنقدم المزيد من التفاصيل عن هذا الجزيء الكبروي عند الحديث عن الغضروف لاحقاً.



الشكل 6-57 : صور بالمجهر الإلكتروني ذي الساحة المظلمة لكداسة بروتيوجليكان جرى تمديد وحيداته وهيكله الخيطي بشكل جيد

هناك على الأقل 7 أشكال من الجليكوز أمينوجليكانات (GAGs): حمض الهيالورونيك وسلفات الكندرويتين (Chondroitin sulfate) وسلفات الكيراتان (Keratan sulfate) من النمط الأول والنمط الثاني والهيبارين (Heparin) وسلفات الهيباران (Heparan sulfate) وسلفات الديرماتان (Dermatan sulfate) والجليكوز امينوجليكان (GAG) هو عديد سكريد غير متفرع يتكون من سكاكر ثنائية متكررة. يكون أحد المكونات دائماً سكرا أمينيا (ومن هنا جاء اسمه) هو الجلوكوزامين اليميني (D-glucosamine) أو الجالاكتوزامين اليميني (D-galactosamine). وأما المكون الآخر لثنائي السكريد المتكرر (إلا في حالة سلفات الكيراتان) فهو حمض

يوروني (Uronic) هو حمض الجلوكورونيك المياسر (GlcUA) أو مصاوغه الصنوي حمض الإيديورونيك المياسر (IdUA). وإذا استثنينا حمض الهيالورونيك، فإن كافة الجليكوز أمينُوجليكانات تحتوي على مجموعات السلفات بشكل إسترات مع الأكسجين (O-esters) أو مرتبطة بالنتروجين (في الهيبارين وسلفات الهيباران). ونجد استثناء آخر في حمض الهيالورونيك حيث لم يوجد دليل واضح على ارتباطه بشكل تساهمي مع البروتين حسب تعريف البروتيوجليكان المذكور آنفاً. وقد تبين أنه من الصعب أن يعمل كل من الجليكوز امينوجليكانات والبروتيوجليكانات معاً، بسبب تعقيدهما. ولكن، هما من المكونات الرئيسية للمادة الأساسية أو القاعدية (Ground substance) ويتصفان بعدد من الأدوار الحيوية الهامة، كما يساهمان في عدد من العمليات المرضية، ولذلك يزداد الاهتمام بهما يوماً بعد يوم.



الشكل 57-7 : مخطط ترسيمي للبروتيوجليكان المدعو بالأجريكان.

يشمل التخليق الحيوي للجليكوز أمينوجليكانات الارتباط مع البروتينات اللبية وتطويل السلسلة وإنهاء السلسلة:

أ – الارتباط مع البروتينات اللبية: يكون الارتباط بين الجليكوز أمينوجليكانات وبروتيناتها اللبية وفق أحد ثلاثة أنماط عموماً:

1 – رابطة جليكوزيدية – O بين الزايلوز (Xyl) والسيرين، وهي مميزة للبروتيوجليكانات وتتشكل بنقل ثمالة زايلوز إلى السيرين من زايلوز ثنائي فسفات اليوريدين (UDP-xylose)، ثم تضاف ثمالتا جالاكتوز إلى ثمالة الزايلوز، فيتشكل ثلاثي سكريد ارتباطي هو Gal-Gal-Xyl-Ser وتنمو سلسلة الجليكوز أمينوجليكان على الجالاكتوز الطرفي.

2 – تتشكل رابطة جليكوزيدية – O بين GalNAc (*N* – أسيتيل الجالاكتوزامين) والسيرين (أو الثريونين). (الشكل 55-1 [a])، وهي توجد في النمط الثاني من سلفات الكيراتان. وتتشكل هذه الرابطة بمنح السيرين (أو الثريونين) ثمالة GalNAc والمانح هو UDP-GalNAc.

3 – رابطة جليكوزيلامين – *N* بين GlcNAc (*N* –أسيتيل الجلوكوزامين) والنتروجين الأميدي لحمض الأسباراجين (Asn) كما هو موجود في البروتينات السكرية ذات الارتباط – N (الشكل 56-1 [b]) ويعتقد أن تخليقه يشمل قليل سكريد الدوليكول ثنائي الفسفات (Dolichol-P-P-oligosaccharide).

يحدث تخليق البروتينات اللبية في الشبكة الهيولية الباطنة، كما يحدث تشكيل لبعض الروابط السابقة على الأقل هناك أيضاً. وتحدث معظم الخطوات الأخيرة في التخليق الحيوي لسلاسل الجليكوز أمينوجليكان وتحويراتها اللاحقة في جهاز جولجي.

ب – تطويل السلسلة: تستخدم سكاكر نوكليوتيدية مناسبة ونواقل جليكوزيل نوعية متوضعة في جهاز جولجي في تخليق سلاسل قلائل سكريد الجليكوز أمينوجليكانات. ويبدو أن العلاقة) إنزيم واحد ـ ارتباط واحد (تنطبق على الحالة هنا أيضاً تماماً كحالة بعض أنماط الروابط الموجودة في البروتينات السكرية.

وتكون الجمل الإنزيمية المساهمة في تطويل السلسلة قادرة على إعادة إنتاج الجليكوز أمينوجليكانات المعقدة بدقة كبيرة.

ج – **إنهاء السلسلة**: يبدو أن ذلك ينجم عن:

1 – السلفتة (Sulfation) أو إضافة السلفات (لاسيما عند مواضع معينة من السكاكر

2 – ابتعاد سلسلة الجليكوز أمينوجليكان المتنامية بعيداً عن موضع حدوث التحفيز على الغشاء.

د – **التحويرات الإضافية**: بعد تشكيل سلسلة الجليكوز أمينوجليكان، تحدث تحويرات كيميائية عديدة كإدخال مجموعات السلفات في GalNAc والجزيئات الأخرى وتشكيل المصاوغ الصنوي للمركب GlcUA لتنجم ثمالات IdUA. وتسمى الإنزيمات المحفزة للسلفتة ناقلات السلفات وهي تستخدم 3´– فسفوأدينوزين ـ 5´ـ فسفوسلفات (PAPS) (السلفات الفعالة) كمانح للسلفات. وهذه الإنزيمات المتوضعة في جهاز جولجي نوعية جداً فتحفز الإنزيمات المختلفة السلفتة في المواضع المختلفة (كذرات الكربون 2 و 3 و 4 و 6) من السكاكر المتقبلة. ويحفز إنزيم من إنزيمات الإيبيميراز انقلاب ثمالات الجلوكورونيل إلى ثمالات الإيديورونيل.

تبدي الجليكوز امينوجليكانات فوارق مخاتلة في البنية ولها توزع خاص:

تختلف الجليكوز أمينوجليكانات السبعة المذكورة آنفاً بعضها عن بعض بعدد من الخصائص التالية: محتواها من السكاكر الأمينية والحمض اليوروني، والروابط بين مكوناتها، وطول سلسلة السكاكر الثنائية، ووجود أو غياب مجموعات السلفات ومواضع ارتباطها بالمقومات السكرية، وطبيعة البروتينات اللبية التي ترتبط بها وطبيعة هذا الارتباط، وتوزعها في الأنسجة والبنى تحت الخلوية، ووظائفها البيولوجية.

وسندرس الآن باختصار بنية كل من الجليكوز أمينوجليكانات وتوزعها (الشكل 57-8). ويلخص (الجدول 57-6) الملامح الرئيسية للجليكوز أمينوجليكانات السبعة.

أ – حمض الهيالورونيك: يتألف حمض الهيالورونيك من سلسلة غير متفرعة من وحدات ثنائية السكريد التكرارية التي تحتوي على GlcUA و GlcNAc. ويوجد حمض الهيالورونيك في الجراثيم، ويتوزع بشكل واسع بين مختلف الحيوانات والأنسجة، بما في ذلك السائل الزليلي والجسم الزجاجي للعين والغضروف والأنسجة الضامة الرخوة.

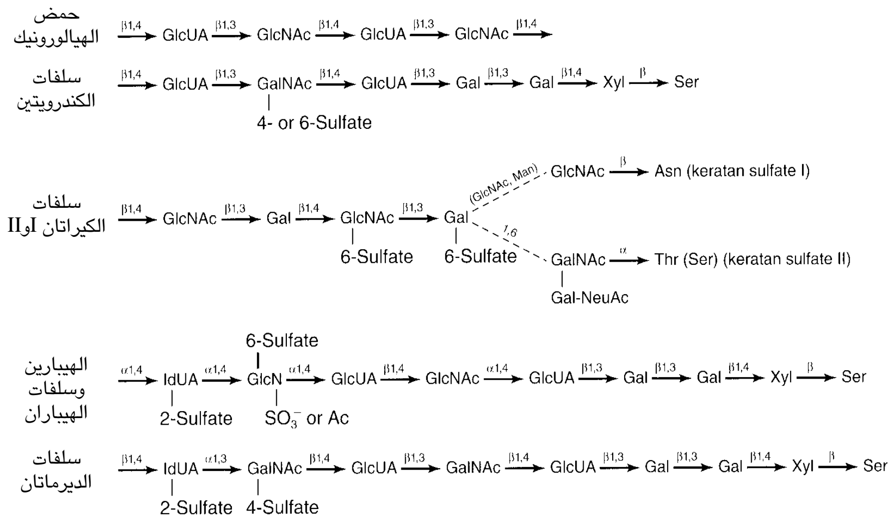
ب – سلفات الكندرويتين (الكندرويتين 4– سلفات والكندرويتين 6 – سلفات): تعد البروتيوجليكانات المرتبطة بسلفات الكندرويتين بالرابطة الجليكوزيدية زايلوز ـ سيرين مكونات بارزة للغضروف (انظر لاحقاً). ويكون ثنائي السكريد التكراري مماثلاً لذلك الموجود في حمض الهيالورونيك مع حلول GalNAc مكان GlcNAc وتضاف السلفات عند الموضع ´4 أو الموضع ´6 من GalNAc بحيث يكون لدينا مجموعة سلفات واحدة لكل ثنائي سكريد.

ج – سلفات الكيراتان I و II : كما هو واضح في (الشكل 57-8)، تتألف سلفات الكيراتان من الوحدات ثنائية السكريد Gal-GlcNAc المتكررة والمحتوية على سلفات مرتبطة بالموضع ´6من أسيتيل الجلوكوزامين (GlcNAc) أو من الجالاكتوز (Gal) أحياناً. ويكون النمط الأول غزيراً في القرنية، ويوجد النمط الثاني مع سلفات الكُندرويتين مرتبطاً بحمض الهيالورونيك في النسيج الضام الرخو. ويكون ارتباط النمطين الأول والثاني مع البروتين مختلفاً (الشكل 57-8).

د – الهيبارين: يتألف ثنائي السكريد التكراري هنا من الجلوكوزامين (GlcN) وأحد حمضي اليورونيك (الشكل 57-9).وتكون معظم المجموعات الأمينية لثمالات الأول مسلفتاً والقليل منها مؤستلاً. ويحمل الجلوكوزامين أيضاً إستراً سلفاتياً على ذرة الكربون السادسة.

يكون نحو 90 ٪ من ثمالات الحمض اليوروني هي IdUA. وفي بداية التخليق تكون جميعها GlcUA لكن الإنزيم ´5– إيبيميراز يحول نحو 90 ٪ منها إلى IdUA بعد تشكيل السلسلة عديدة السكريد. ويكون الجزيء البروتيني لبروتيوجليكان

الهيبارين متميزاً حيث يتكون من ثمالات السيرين والجليسين حصراً. ويرتبط نحو ثلثي ثمالات السيرين مع سلاسل الجليكوز أمينوجليكان التي تزن نحو 5-15 ك. دالتون عادة، لكنها قد تكون أطول بكثير أحياناً. ويوجد الهيبارين في حبيبات الخلايا البدينة والكبد والرئة والجلد.



الشكل 57-8 : ملخص لبنى الجليكوز أمينوجليكانات وارتباطها مع البروتينات اللبية (GlcUA: حمض الجلوكورونيك اليميني؛ IdUA: حمض الإيديورونيك المياسر؛ GlcN: الجلوكوزامين اليميني؛ GalN: الجالاكتوزامين اليميني؛ Ac: الأسيتيل؛ Gal: الجالاكتوز اليميني؛ Xyl: الزايلوز اليميني؛ Ser: السيرين المياسر. Thr: الثريونين المياسر؛ Asn: الأسباراجين المياسر؛ Man: المانوز اليميني؛ NeuAc: حمض - N أسيتيل النوارمينيك؛ sulfate: سلفات). وقد جرى تمثيل البنى المختصرة بشكل كيفي فقط دون تفصيل، ولا يعكس، على سبيل المثال، المحتوى من حمض اليورونيك الموجود في الجليكوز أمينوجليكانات الهجينة كالهيبارين وسلفات الديرماتان التي تحتوي على كل من حمض الإيديورونيك المياسر والجلوكورونيك اليميني. وليس من المفترض وجود الاستبدال المشار إليه دائماً، فمثلاً في حين تحمل معظم ثمالات حمض الإيديورونيك في الهيبارين مجموعة سلفات في الموضع´ 2، تكون نسبة أصغر بكثير من هذه الثمالات مسلفتة في سلفات الديرماتان. ويوضح الشكل وجود السكاكر الثلاثية الارتباطية (Gal-Gal-Xyl) في سلفات الكندرويتين والهيبارين وسلفات الهيباران وسلفات الديرماتان.

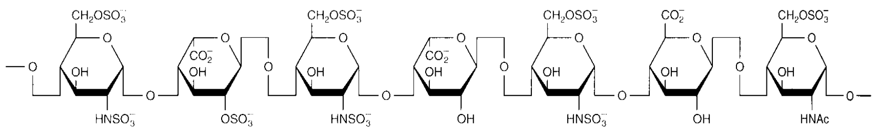
الجليكوز أمينوليكان	السكاكر	السلفات[1]	الارتباط مع البروتين	الموقع
HA	GlcUA,GlcNAc	لايوجد	لا توجد بينات مثبتة	السائل الزليلي، الخلط الزجاجي، النسيج الضام الرخو.
CS	GlcUA,GalNac	GalNAc	زايلوز ـ سيرين، مرتبط مع HA بالبروتينات الرابطة.	الغضروف، العظم، القرنية.
KSI	Gal, GlcNAc	GlcNAc	أسيتيل الجلوكوزامين ـ أسباراجين	القرنية.
KSII	Gal, GlcNAc	مثل KS I	أسيتيل الجالاكتوزامين ـ ثريونين	النسيج الضام الرخو.
الهيبارين	IdUA, GlcN	GlcN GlcN IdUA	السيرين	الخلايا البدينة
سلفات الهيباران	GlcUA,GlcN	GlcN	زايلوز – سيرين	الأرومات الليفية الجلدية، جدار الأورطي
سلفات الديرماتان	GalNAc,IdUA, (GlcUA)	GalNAc IdUA	زايلوز – سيرين	انتشار واسع

الجدول 57-6 : الخصائص الرئيسة للجليكوز أمينوجليكانات.

1 – تكون السلفات مرتبطة بمواضع مختلفة من السكاكر المشار إليها (انظر الشكل 57-5).

هـ – سلفات الهيباران (Heparan sulfate): يوجد هذا الجزيء على سطوح الكثير من الخلايا بشكل بروتيوجليكان، ويكون خارج الخلية. ويحتوي على GlcN نسبة السلفات فيه أقل بكثير من الهيبارين، ويكون حمض اليورونيك السائد فيه هو GlcUA خلافاً للهيبارين.

و – سلفات الديرماتان: تنتشر هذه المادة بشكل واسع في الأنسجة الحيوانية. وتكون بنيتها مشابهة لبنية سلفات الكندرويتين لكن الرابطة 1β و 3 بيتا الممتدة من GlcUA إلى GalNAc في الأخير تتحول إلى رابطة 1α و 3 ألفا ممتدة من IdUA إلى GalNAc. ويتشكل IdUA، كما في الهيبارين وسلفات الهيباران، بواسطة المصاوغة الصنوية للمركب GlcUA عند الذرة ٥َ. وبما أن هذا التفاعل يتحدد بمدى حدوث السلفتة، وبما أن السلفتة تكون غير تامة، لذلك تحتوي سلفات الديرماتان على كل من ثنائيات سكريد IdUA - GalNAc و GalNAc - GlcUA.



GlcN IdUA GlcN IdUA GlcN GlcUA GlcUAc

الشكل 57-9 : بنية الهيبارين. يوضح مقطع البلمر الملامح البنيوية النموذجية للهيبارين. ولكن اختيار تسلسل وحدات ثنائي السكريد التكرارية المستبدلة استبدالات مختلفة جرى بشكل عشوائي. كما يمكن أن توجد ثمالات جلوكوزامينية غير مسلفتة عند الموضع – O أو مسلفتة في الموضع – O على الكربون رقم 3.

تؤدي أعواز إنزيمات تدرك الجليكوز أمينوجليكانات إلى أدواء عديدات السكريد المخاطية:

تقوم إنزيمات جليكوزيداز (Glycosidase) داخلية (-endo) وخارجية (-exo) بتحفيز تدرك الجليكوز أمينوجليكانات، وكمعظم الجزيئات الحيوية الأخرى، تتعرض الجليكوز أمينوجليكانات إلى التقلب حيث تخلق وتتدرك باستمرار وإن كان معدله بطيئاً نسبياً بوجه عام في أنسجة البالغين، وتتراوح أعمارها النصفية ما بين أيام إلى أسابيع.

لقد اعتمد فهم سبل التدرك الخاصة بالجليكوز أمينوجليكانات، كما في حالة البروتينات السكرية (الفصل 56) والشحميات السكرية السفينجولية (الفصل 26)، على المساعدة الكبيرة التي قدمها لنا إيضاح الأعواز الإنزيمية النوعية التي تحدث في بعض الأخطاء الأيضية الخلقية. وعندما تكون الجليكوز أمينوجليكانات متضمنة، تدعى هذه الأخطاء باسم أدواء عديدات السكريد المخاطية (Mucopolysaccharidosis) (الجدول 57-7). يجري تدرك الجليكوز أمينوجليكانات بواسطة مجموعة من إنزيمات الحلمهة (الهيدرولاز) في اليحلولات (الجسيمات الحالة). وتشتمل هذه على إنزيمات جليكوزيداز داخلية معينة وإنزيمات جليكوزيداز خارجية مختلفة وإنزيمات السلفاتاز التي تعمل بشكل تسلسلي لتتم تدرك الجليكوز أمينوجليكانات المختلفة. ويشير (الجدول 57-7) إلى عدد منها.

تشترك أدواء عديدات السكريد المخاطية بآلية سببية مشتركة (الشكل 57-10). وهي تورث بطريقة كروموسومية جسدية متنحية. وربما كانت متلازمتي هيرلر (Hurler) وهنتر (Hunter) أكثر هذه الأدواء دراسة. وليس أي من هذه الأدواء شائعاً نحصل وفي بعض الحالات على قصة عائلية لداء من أدواء عديدات السكريد المخاطية. والتحريات المختبرية النوعية التي تساعد في التشخيص هي اختبارات البول لكشف وجود مقدار زائد من الجليكوز أمينوجليكانات، ومقايسة الإنزيمات المشتبهة في الكريات البيض أو الأرومات الليفية، أو في المصل أحياناً. وتجرى خزعة نسيجية في بعض الحالات، ويمكن تعيين الجليكوز أمينوجليكان المتراكم بالرحلان الكهربائي. وقد ازداد توفر اختبارات الدنا (DNA) شيئاً فشيئاً ويمكن إجراء التشخيص قبل الولادة باستعمال الخلايا السلوية أو خزعة الزغابات المشيمائية.

الجدول 57-7: العيوب الكيميائية الحيوية والاختبارات التشخيصية في أدواء عديدات السكريد المخاطية (Mucopolysaccharidoses “MPS”) والأدواء الشحميّة المخاطية (mucolipidosis “ML”).

الاسم	الرمز البديل[2,1]	العيب الإنزيمي	المستقلبات البولية
أدواء عديدات السكريد المخاطية:			
هيرلر، شيه، هيرلد ـ شيه (MIM252800)	MPS I	ألفا ـ إبديورونيداز المياسر	سلفات الديرماتان، سلفات الهيباران
هنتر (MIM309900)	MPS II	سلفاتاز الإيديورونات	سلفات الديرماتان، سلفات الهيباران
سانفيليبو A (MIM252900)	MPS IIIA	N – سلفاتاز سلفات الهيبارين(السلفاميداز)	سلفات الهيباران
سانفيليبو B (MIM252920)	MPS IIB	ألفا N –أسيتيل الجلوكوزامينيداز	سلفات الهيباران
سانفيليبو C (MIM252930)	MPS IIIC	ناقلة الأسيتيل	سلفات الهيباران
سانفيليبو D (MIM252940)	MPS IIID	N– أسيتيل الجلوكوز أميني 6–سلفاتاز	سلفات الهيباران
موركيو A (MIM253000)	MPS IVA	الجالكتوزامين 6– سلفاتاز	سلفات الكيراتان، الكندرويتين، 6– سلفات
موركيو B (MIM253010)	MPS IVB	بيتا جالاكتوزيداز	سلفات الكيراتان
ماروتو–لامي (MIM253200)	MPS VI	N – أسيتيل جالاكتوزامين 4– سلفاتاز (سلفاتاز الآريل B)	سلفات الديرماتان
سلاي (MIM235220)	MPS VII	بيتا جلوكورونيداز	سلفات الديرماتان، سلفات الهيباران، الكندرويتين 4 – سلفات، الكندرويتين 6 – سلفات

الاسم	الرمز البديل[2,1]	العيب الإنزيمي	المستقلبات البولية
أمراض شحمية مخاطية:			
داء حمض السياليك (MIM256550)	ML I	السياليداز (النورامينيداز)	شدف البروتينات السكرية
مرض الخلية I (MIM252500)	ML II	ناقلة أسيتيل الجلوكوزامينينيل المفسفت من N-UDP-أسيتيل الجلوكوزامين إلى البروتين السكري (وبذلك تفتقر إنزيمات الهيدرولاز الحمضية لثمالات الفسفومانوزيل)	شدف البروتينات السكرية
الحثل العديد الكاذب من نمط هيرلر (MIM252600)	ML III	كما في النمط Ml II، لكن يكون العوز غير تام	شدف البروتينات السكرية

1 – يمكن استخدام الأرومات الليفية أو الكريات البيضاء أو الأنسجة أو خلايا السائل السلوي (Amniotic) أو المصل لمقايسة عدد من الإنزيمات المذكورة. ويبدي المصابون بهذه الاضطرابات موجودات إكلينيكية مختلفة يمكن أن تشتمل على تغيم القرنية والتخلف العقلي وتيبس المفاصل والشذوذات القلبية وضخامة الكبد والطحال والقامة القصيرة، وذلك حسب كل مرض وشدته.

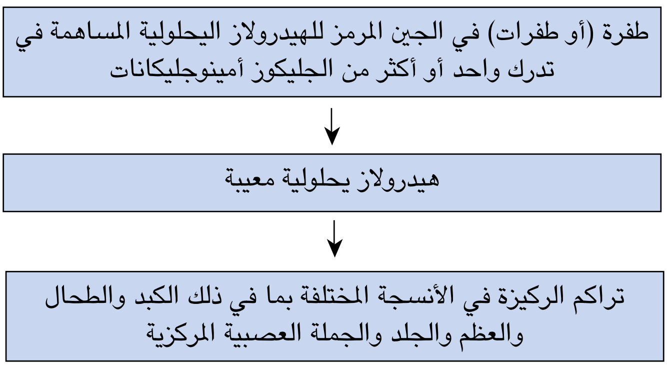
2 – لم يعد يستخدم المصطلح MPS V، ولم يثبت وجود (MPS VIII) الاشتباه بعوز الجلوكوزامين 6 – سلفاتاز (MIM253230). وقد ذكرت حالة واحدة على الأقل من عوز الهيالورونيداز (MPS IX) (MIM 601492).

دخل مصطلح الأدواء الشحمية المخاطي (Mucolipidosis) للدلالة على الأمراض التي تشترك بملامح مشتركة لكل من أدواء عديدات السكريد المخاطية وأدواء الشحميات السفينجولية (Sphingolipidoses) (الفصل 26).

ويدرج (الجدول 57-7) ثلاثة أشكال من الأدواء الشحمية المخاطية. في الشكل الأول، داء حمض السياليك (Sialidosis)، يمكن أن تتراكم قلائل سكريد مختلفة مشتقة من البروتينات السكرية وبعض الجانجليوزيدات في الأنسجة. وقد جرى

وصف داء الخلية I (ML-II) والحثل العديد الكاذب لهيرلر (ML-III) في (الفصل 56). وقد بقي مصطلح «الأدواء الشحمية المخاطية» لأنه ما يزال يستخدم إكلينيكياً على نطاق واسع نسبياً لكنه غير مناسب للمرضين الأخيرين لأن آلية حدوث كل منهما تشمل سوء التوضع لإنزيمات معينة من إنزيمات اليحلولات (الجسيمات الحالة). كما أتى (الفصل 56) على وصف العيوب الوراثية في تقوض سلاسل قلائل السكريد للبروتينات السكرية (مثل الداء المانوزيدي، الداء الفوكوزيدي) (Fucosidosis) وتتصف معظم هذه العيوب بزيادة إفراغ مختلف شدف البروتينات السكرية في البول، والتي تتراكم بسبب الحصار الأيضى كما في حالة الأدواء الشحمية المخاطية.

يعد الهيالورونيداز (Hyaluronidase) إنزيماً هاماً يساهم في تقويض كل من حمض الهيالورونيك وسلفات الكُندرويتين. وهو يتوزع على نطاق واسع بشكل جليكوزيداز داخلي يشطر الروابط الهيكسوزامينيدية. ويتولد عن فعل هذا الإنزيم على حمض الهيالورونيك رباعي السكريد ذي البنية (GlcUA-β-1 و 3-GlcNAc-β-1,4)$_2$ التي يمكن أن تتدرك أكثر بواسطة بيتا ـ جلوكورونيداز وبيتا N– أسيتيل هيكسوزامينيداز. ومن المدهش أن حالة واحدة فقط لعوز وراثي واضح في هذا الإنزيم قد ذكرت في الأدب الطبي.



الشكل 57-10 : مخطط مبسط لسبب حدوث أدواء عديدات السكريد المخاطية كمتلازمة هيرلر (MIM250800) حيث يكون الإنزيم المعيب هو الإيديورونيداز المياسر ـ ألفا. ويؤدي التراكم الملحوظ للبروتيوجليكانات السكرية في الأنسجة المذكورة في الشكل إلى ضخامة الكبد والطحال واضطرابات النمو والسحنة الغليظة والتخلف العقلي على الترتيب.

للبروتيوجليكانات وظائف عديدة:

تعد البروتيوجليكانات، كما أشرنا سابقاً، جزيئات معقدة توجد في كل أنسجة الجسم لاسيما في المَطرس خارج الخلايا أو «المادة الأساسية» حيث يرتبط بعضها مع بعض وترتبط مع مكونات المَطرس البنيوية الأخرى الرئيسية أيضاً، أي الكولاجين والإيلاستين، بطريقة نوعية تماماً (ترتبط بعض البروتيوجليكانات بالكولاجين وبعضها الآخر بالإيلاستين). هذه التآثرات هامة جداً في تحديد التعضي البنيوي للمطرس. كما يمكن أن ترتبط بعض البروتيوجليكانات، كالديكورين مثلاً، بعوامل النمو مثل العامل TGF-β (انظر الفصل 62) فتعدل تأثيراتها في الخلايا. كما تتآثر بعض هذه المركبات مع بروتينات التصاقية معينة موجودة أيضاً في المطرس كالفيبرونكتين واللامينين (انظر آنفاً). وتكون الجليكوز أمينوجليكانات الموجودة في البروتيوجليكانات عديدة الأنيونات، ومن ثم فهي تربط عديدات الكاتيون والكاتيونات كأيونات الصوديوم والبوتاسيوم. وتجذب هذه الخاصية الأخيرة الماء بواسطة الضغط التناضحي إلى المطرس خارج الخلايا وتساهم في انتفاخه (Turgor). وتتهلم الجليكوز أمينوجليكانات أيضاً عند تراكيز منخفضة نسبياً. وبسبب الطبيعة الامتدادية الطويلة للسلاسل عديدة السكريد في الجليكوز أمينوجليكانات وقدرتها على التهلم تعمل البروتيوجليكانات كمناخل (Sieves) تحد من عبور الجزيئات الكبروية الكبيرة في المطرس خارج الخلايا لكنها تسمح بانتشار حر نسبياً للجزيئات الصغيرة. وثانية بسبب بناها الامتدادية والمكدسات الجزيئية الكبروية الهائلة التي غالباً ما تشكلها فهي تشغل حجماً كبيراً من المطرس نسبة إلى البروتينات.

أ – بعض الوظائف الخاصة للجليكوز أمينوجليكانات والبروتيوجليكانات:

يكون حمض الهيالورونيك بشكل خاص مرتفع التركيز في الأنسجة المضغية، ويعتقد أنه يلعب دوراً هاماً في السماح بالهجرة الخلوية خلال التخلق (Morphogenesis) وترميم الجروح. ويمكن أن تكون قدرته على جذب الماء إلى المطرس خارج الخلايا ومن ثم «خلخلته» هامة في هذا السياق. وتساهم التراكيز

المرتفعة لحمض الهيالورونيك وسلفات الكُندرويتين الموجودة في الغضروف في قابليته للانضغاط (Compressibility) (انظر لاحقاً).

تتوضع سلفات الكندرويتين عند مواضع التكلس في العظم الغضروفي الداخلي، كما توجد في الغضروف. وهي تتوضع أيضاً داخل بعض العصبونات حيث يمكن أن تعطي بنية هيكلية داخلية تساعد في الحفاظ على شكلها.

يوجد سلفات الكيراتان I وسلفات الديرماتان في القرنية. وهما يتوضعان بين الليفات الكولاجينية، ويلعبان دوراً هاماً في شفافية القرنية. وتختفي تغيرات تركيب البروتيوجليكان المرافقة لندبات القرنية عند شفائها. كما قد يساهم وجود سلفات الديرماتان في الصلبة في المحافظة على الشكل الإجمالي للعين. ويوجد سلفات الكيراتان I في الغضروف أيضاً.

يعد الهيبارين مضاداً هاماً للتخثر فهو يرتبط مع العاملين التاسع والحادي عشر لكن أهم ارتباط له هو تآثره مع مضاد الثرومبين البلازمي الثالث III (الفصل 59). ويعجل ارتباط الهيبارين بهذا البروتين البلازمي بنسبة جزيء إلى جزيء قدرة الأخير على تعطيل إنزيمات بروتياز السيرين كثيراً، لاسيما الثرومبين. ويبدو أن ارتباط الهيبارين بثمالات الليسيل في مضاد الثرومبين الثالث يحرض تغيراً في هيئة الأخير يدعم ارتباطه مع بروتيازات السيرين. ويمكن أن يرتبط الهيبارين أيضاً بشكل نوعي بإنزيم ليباز البروتين الشحمي الموجود في الجدر الشعرية، مما يؤدي إلى تحرر هذا الإنزيم إلى الدوران.

تتحد بعض البروتيوجليكانات (مثل سلفات الهيباران) مع الغشاء البلازمي للخلايا، مرتبطة بالبروتينات اللبية التي تعبر فعلياً ذلك الغشاء حيث تلعب دور المستقبلات، كما قد تساهم في توسط نمو الخلية والتواصل بين الخلايا. ويتوسط سلفات الهيباران ارتكاز الخلايا إلى الطبقة التحتية (Substratum) في المزرعة، ولو جزئياً على الأقل. ويوجد هذا البروتيوجليكان أيضاً في الغشاء القاعدي الكلوي، مع النمط الرابع من الكولاجين واللامينين (انظر سابقاً)، حيث يلعب دوراً أساسياً في تعيين انتقائية الشحنات في الترشيح الكبيبي.

توجد البروتيوجليكانات أيضاً في مواضع داخل الخلية كالنواة، ولم تتضح وظيفتها في هذا العضي بعد. وتوجد في بعض الحبيبات الاختزانية والإفرازية، كالحبيبات الأليفة للكروم في لب الكظر. ويفترض أنها تساهم في إطلاق محتويات بعض هذه الحبيبات. ويلخص (الجدول 57-8) الوظائف المختلفة للجليكوز أمينوجليكانات.

* تعمل كمكونات بنيوية في المطرس خارج الخلوي.
* تآثرات نوعية مع الكولاجين والإيلاستين والفيبرونكتين واللامينين وبعض البروتينات الأخرى كعوامل النمو.
* كونها عديدات أنيون لذلك، تربط عديدات الكاتيون والكاتيونات.
* تساهم في القوام المميز لمختلف الأنسجة.
* تعمل كمناخل في المطرس خارج الخلايا.
* تيسر هجرة الخلايا (حمض الهيالورونيك).
* تساهم في قابلية الغضروف للانضغاط عند حمل الثقل (حمض الهيالورونيك، سلفات الكندرويتين).
* تساهم في شفافية القرنية (سلفات الكيراتان I وسلفات الديرماتان).
* تتصف بدور بنيوي في الصلبة (سلفات الديرماتان).
* تعمل كمضاد للتخثر (الهيبارين).
* تعد مكونات للأغشية البلازمية، حيث يمكن أن تعمل كمستقبلات وتساهم في التصاق الخلايا والتآثرات الخلوية ـ الخلوية (مثل سلفات الهيباران).
* تحدد انتقائية الشحنات في الكبيبة الكلوية (سلفات الهيباران).
* هي مكونات للحويصلات المشبكية وغيرها (مثل سلفات الهيباران).

الجدول 57-8 : بعض وظائف الجليكوز أمينوجليكانات والبروتيوجليكانات.

ب – الارتباط بأمراض هامة وبالتشيخ:

قد يكون حمض الهيالورونيك هاماً في السماح بهجرة الخلايا الورمية عبر المطرس خارج الخلايا. ويمكن أن تحرض الخلايا الورمية تخليق الأرومات الليفية لكميات زائدة كثيراً من حمض الهيالورونيك، وبذلك فقد تيسر انتشارها الذاتي. كما تبدي بعض الخلايا الورمية كميات أقل من سلفات الهيباران على سطوحها، وهذا ما قد يساهم في عدم التصاقها، الأمر الذي تتميز به.

تحتوي باطنة (Intima) الجدار الشرياني على حمض الهيالورونيك وبروتيوجليكانات كل من سلفات الكُندرويتين وسلفات الديرماتان وسلفات الهيباران. ومن بين هذه البروتيوجليكانات، تربط سلفات الديرماتان البروتينات الشحمية البلازمية خفيضة الكثافة. كما يبدو أن سلفات الديرماتان هي الجليكوز أمينوجليكان الرئيسي الذي تخلقه الخلايا العضلية الملساء الشريانية. وبما أن هذه الخلايا هي التي تتكاثر في آفات التصلب العصيدي الشريانية، لذلك قد تلعب سلفات الديرماتان دوراً هاماً في ظهور لويحات التصلب العصيدي.

يمكن أن تعمل البروتيوجليكانات في مختلف أنماط التهاب المفاصل دور مستضدات ذاتية، وبذلك تساهم في الملامح الباثولوجية لهذه الاضطرابات. وتنقص كمية سلفات الكندرويتين في الغضروف مع تقدم العمر، في حين تزداد مقادير سلفات الكيراتان وحمض الهيالورونيك. وقد تساهم هذه التغيرات في حدوث الفصال العظمي. كما تلاحظ تغيرات في مقادير بعض الجليكوز أمينوجليكانات في الجلد مع تقدم العمر، وتساعد في فهم التغيرات المميزة الملاحظة في هذا العضو لدى المسنين.

يعد العظم نسيجاً ضاماً متمعدناً:

يحتوي العظم على مواد عضوية وأخرى لا عضوية. وتكون المادة العضوية بروتيناً بشكل رئيسي. ويدرج (الجدول 57-9) البروتينات الرئيسية في العظم، ويعد النمط الأول من الكولاجين هو البروتين الأساسي، حيث يشكل 90-95 ٪ من المادة العضوية. كما يوجد النمط الخامس من الكولاجين بكميات صغيرة، وكذلك عدد من البروتينات غير الكولاجينية يكون بعضها نوعياً نسبياً للعظم. ويعد هيدروكسي

الأباتيت ($Ca_{10}[PO_4]_6[OH]_2$) البلوري المكون اللاعضوي أو المعدني الرئيسي، بالإضافة إلى الصوديوم والمغنيزيوم والكربونات والفلوريد، ويوجد نحو 99٪ من كالسيوم الجسم في العظم (الفصل 49). ويمنح هيدروكسي الآباتيت العظم القوة والمقاومة اللذين تحتاجهما أدواره الفيزيولوجية.

يعد العظم بنية ديناميكية تخضع لدورات مستمرة من إعادة التقولب (Remodeling) وتتألف هذه الدورات من ارتشاف (Resorption) يتلوه ترسب (Deposition) نسيج عظمي جديد. وتسمح إعادة التقولب هذه بتكيف العظم مع الإشارات الفيزيائية (كزيادة حمل الوزن) والهرمونية.

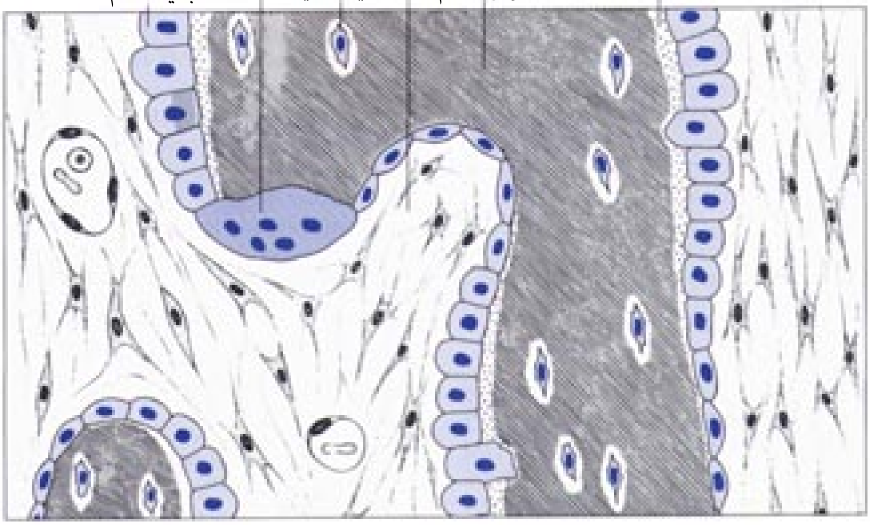
وتعد ناقضات العظم (Osteoclasts) وبانيات العظم (Osteoblasts) (الشكل 57-11) الأنماط الخلوية الرئيسية المساهمة في الارتشاف والترسيب على الترتيب. وتأتي الخلايا العظمية (Osteocytes) من بانيات العظم ويبدو أنها تساهم أيضاً في الحفاظ على المطرس العظمي، غير أنه لن ندرسها أكثر من ذلك هنا.

ناقضات العظم هي خلايا عديدة النوى مشتقة من الخلايا الجذعية المكونة للدم عديدة الطاقات أو الفاعلية (Pluripotent hematopoietic stem cells) وتبدي ناقضات العظم حقلاً غشائياً قمياً يتصف بحافة مجعدة (Ruffled) تلعب دوراً أساسياً في ارتشاف العظم (الشكل 57-12). وتدفع الأتباز المزفئة للبروتونات (Proton-translocating ATPase) البروتونات عبر الحافة المجعدة إلى منطقة الارتشاف التي تمثل وسطاً صغرياً تنخفض باهاؤه (pH) الموضعية حتى 4.0 أو أقل، وبذلك تزيد ذوبان هيدروكسي الآباتيت وتسمح بحدوث التمعدن. وتتحرر إنزيمات بروتياز حمضية يحلولية تهضم البروتينات المطرسية المتاحة الآن. وتقوم بانيات العظم (خلايا أحادية النوى مشتقة من سلائف متوسطية عديدة الطاقات) بتخليق معظم البروتينات الموجودة في العظم (الجدول 57-9) بالإضافة إلى عوامل نمو وسيتوكينات مختلفة. وهي مسؤولة عن ترسب المطرس العظمي الجديد (Osteoid) وتمعدنه اللاحق. وتتحكم بانيات العظم بالتمعدن من خلال تنظيم مرور الكالسيوم والفسفات عبر أغشيتها السطحية. وتحتوي هذه الأغشية على الفسفاتاز القلوية التي تستخدم في توليد أيونات الفسفات من إسترات الفسفات العضوية. ولم تفهم تماماً الآليات المساهمة في التمعدن، لكن تمت الإشارة لعدة عوامل تسهم فيه.

الملاحظات	البروتينات
	الكولاجينات :
90 ٪ من إجمالي بروتينات العظم تقريباً . يتألف من سلسلتين ألفا$_1$ (I) وسلسلة ألفا$_2$ (II)	النمط الأول من الكولاجين
مكون قليل الكمية	النمط الخامس من الكولاجين
	بروتينات غير كولاجينية :
مزيج من البروتينات البلازمية المختلفة	البروتينات البلازمية
يحوي سلسلتين جليكوز أمينوجليكان؛ يوجد في أنسجة أخرى	البروتيوجليكانات[2] (CS-PG I) الجليكان الثنائية
يحوي سلسلة جليكوز أمينوجليكان واحدة ؛ يوجد في أنسجة أخرى	(CS-PG II) الديكورين
نوعي للعظم	CS-PG III
غير نوعي للعظم	البروتين SPARC العظمي[3] (الأوستيونكتين)
يحتوي على ثمالات جاما ــ كربوكسي الجلوتامات المرتبطة بهيدروكسي الآباتيت ؛ نوعي للعظم	الأوستيوكالسين (بروتين العظم المحتوي على جاما–كربوكسي الجلوتامات)
غير نوعي للعظم، مفسفت، مرتبط بالجليكوزيل	الأوستيوبونتين
نوعي للعظم ، مرتبط بالجليكوزيل بغزارة ، مسلفت عند التيروزين	السيالي البروتين العظمي (Sialoprotein)
عائلة (ثمانية أو أكثر) من البروتينات المُفرَزة ذات ضروب مختلفة من الأفعال في العظام، ويحرض الكثير منها نمو العظم المنتبذ	البروتينات العظمية التخلقية (BMPs)

الجدول 57-9 : البروتينات الأساسية الموجودة في العظم [1].

1– نُسبت وظائف مختلفة للبروتينات غير الكولاجينية بما في ذلك دورها في التّمعدن. ولكن مازال الكثير من هذه الوظائف افتراضياً ومن غير المحتمل أن تلعب البروتينات غير الكولاجينية غير النوعية للعظم دوراً أساسياً في التّمعدن . كما يوجد عدد من البروتينات الأخرى في العظم بما في ذلك البروتين المَطرسي الحمضي الغني بالتيروزين (TRAMP) وبعض عوامل النمو (مثل TGFβ) وبعض الإنزيمات التي تساهم في تخليق الكولاجين (كأكسيداز الليسيل) .2– CS-PG هو بروتيوجليكان سلفات الكُندرويتين ، وهو مماثل لبروتيوجليكان سلفات الديرماتان(DS-PGs) في الغضروف (الجدول 57-12) . 3 – SPARC هو بروتين إفرازي حمضي وغني بالسيستين (Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine).

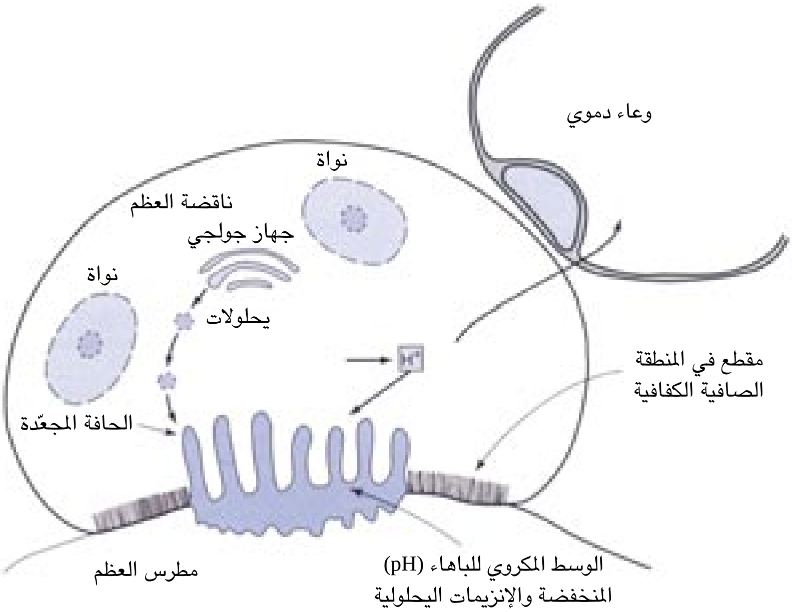


الشكل 57-11 : إيضاح ترسيمي للخلايا الأساسية الموجودة في العظم الغشائي. وتصنع الأرومات العظمية (اللون الفاتح) النمط الأول من الكولاجين الذي يشكل مطرساً يحتجز الخلايا. وعند حدوث ذلك، تتمايز بانيات العظم شيئاً فشيئاً لتصبح خلايا عظمية.

وتساهم الفسفاتاز القلوية في التمعدن، لكنها لا تكفي وحدها. وقد وصفت حويصلات صغيرة (حويصلات مطرسية) تحتوي على الكالسيوم والفسفات عند مواضع التمعدن، غير أنه لم يتضح دورها. ويبدو أن النمط الأول من الكولاجين ضروري حيث يتضح التمعدن أولاً في الفجوات بين جزيئاته المتعاقبة. ولقد تركز الاهتمام حديثاً على البروتينات الفسفورية الحمضية (كالبروتين السيالي العظمي) التي تعمل كمقرات للتنوي (Nucleation) وتحتوي هذه البروتينات على بنى (كاستطالات عديد الأسباراجين أو عديد الجلوتامين) تربط الكالسيوم ويمكن أن تؤمن سقالة أولية للتمعدن. ويمكن أن تعمل بعض جزيئات كبروية معينة، كالبروتيوجليكانات والبروتينات السكرية، كمثبطات للتنوي أيضاً.

يقدر أن نحو 4 ٪ من العظم المكتنز (Compact bone) يتجدد سنوياً في البالغ النموذجي صحيح الجسم، في حين يستبدل نحو 20 ٪ من العظم التربيقي (Trabecular bone).

تساهم عدة عوامل في تنظيم أيض العظم (الجدول 57-10) ينبه بعضها الأرومات العظمية أو يثبطها وينبه بعضها ناقضات العظم أو يثبطها. ولقد درسنا في (الفصلين 45 و 51) أدوار هرمون النمو وعوامل النمو الشبيهة بالإنسولين في الأيض العظمي. وفي (الفصل 47) أدوار الهرمون الدريقي والكالسيتريول 1,25 ($[OH]_2D3$).



الشكل 57-12 : إيضاح ترسيمي لبعض أوجه دور ناقضة العظم في الارتشاف العظمي. تتحرر الإنزيمات اليحلولية وأيونات الهيدروجين إلى وسط مكروي محصور، يتكون من خلال الاتصال بين المطرس العظمي والمنطقة الراتقة المحيطية لناقضة العظم. ويسهل تحميض هذا الحيز المحصور ذوبان فسفات الكالسيوم من العظم، وتكون الباهاء (pH) المثالية اللازمة لتنشيط إنزيمات الهيدرولاز اليحلولية. وبذلك ينزع المطرس العظمي، وتلتقف نواتج ارتشاف العظم نحو هيولي الناقضة العظمية، وربما تهضم أكثر وتنقل إلى الشعيرات. وتشير المعادلة الكيميائية في الشكل إلى فعل الأنهيدراز الكربونية II الموصوفة في النص.

تنبه بانيات العظم:

الهرمون الدريقي

1 ، 25 – ثنائي هيدروكسي كولي كالسفيرول

T4 ,T3

IGF-1 , hGH

PGE_2

TGFβ

الإستروجينات؟

تثبط بانيات العظم:

الستيرويدات القشرية

تنبه ناقضات العظم:

الهرمون الدريقي

1 ، 25 – ثنائي هيدروكسي كولي كالسفيرول

IL-6 , IL-1

TNF

TGFα

تثبط ناقضات العظم:

الكالسيتونين

الإستروجينات (لتثبيط إنتاج IL-6)

TGFβ

IFNα

PGE_2

الجدول 10-57 : عوامل التي تؤثر في الأرومات العظمية وناقضات العظم [1].

1 – شرحت المختصرات في النص.

تصيب عدة اضطرابات أيضية ووراثية العظم:

يدرج (الجدول 57-11) عدداً من أهم الاضطرابات الأيضية والوراثية التي تصيب العظم. وقد درسنا القزامة (Dwarfism) في (الفصل 45)، والرخد وتلين العظام وفرط الدريقية في (الفصل 45).

يتصف تكون العظم الناقص (Osteogenesis imperfecta) (العظام القصيمة) بهشاشة غير طبيعية في العظام. وغالباً ما تكون الصلبتان مترققتين وشفافتين بشكل شاذ ويمكن أن تأخذا اللون الأزرق بسبب عوز النسيج الضام. ولقد كشفت 4 أنماط من هذه الحالة (خفيف وممتد وشديد ومتغير)، ويعد النمط الممتد الذي يحدث عند الولادة أسوأها إنذاراً. ويمكن أن يولد المصابون ولديهم عدة كسور ويموتون. ويكون لدى أكثر من 90 ٪ من المصابين بتكون العظم الناقص طفرات في الجينين COL1A1 و COL1A2 اللذين يرمزان السلسلتين الطليعيتين ألفا (I) وألفا$_2$ (II) على الترتيب. وقد أثبت وجود أكثر من 100 طفرة في هذين الجينين (حالات خبن وتضاعف جينية جزئية). كما تصيب طفرات أخرى تضفير الرنا (RNA)، ويؤدي أكثر الأنماط شيوعاً إلى استبدال الجليسين بحمض أميني آخر أكبر منه مما يعيق تشكل الحلزون الثلاثي. وعلى العموم، تؤدي هذه الطفرات إلى نقص تعبير الكولاجين أو إلى سلاسل ألفا طليعية شاذة بنيوياً تتجمع لتشكل لُييفات شاذة مما يضعف البنية الإجمالية للعظم. وعند وجود سلسلة شاذة واحدة يمكن أن تتآثر مع سلسلتين سويتين غير أن ذلك قد يمنع التطوي مما يؤدي إلى تدرك إنزيمي لكل هذه السلاسل جميعاً، ويدعى ذلك باسم «انتحار طليعة الكولاجين»، وهي مثال عن الطفرات السلبية السائدة وغالباً ما تشاهد النتيجة عندما يتألف البروتين من عدة وحيدات مختلفة.

ينجم تصخر العظم (Osteopetrosis) داء العظم المرمري (Marble bone disease) المتميز بزيادة الكثافة العظمية عن العجز عن ارتشاف العظم. ويحدث أحد أشكاله مع الحماض النبيبي الكلوي والتكلس الدماغي وينجم عن طفرات في الجين الذي يرمز الأنهيدراز الكربونية II (CA II) (وموضعه على الشريط 22 من الكروموسوم 8 (8q22)) هذا الإنزيم هو أحد النظائر الإنزيمية الأربعة للأنهيدراز

الكربونية الموجودة في الأنسجة البشرية. وتحفز الأنهيدراز الكربونية التفاعل التالي:

$$CO_2 + H_2O \overset{I}{\longleftrightarrow} H_2CO_3 \overset{II}{\longleftrightarrow} H^+ + HCO_3^-$$

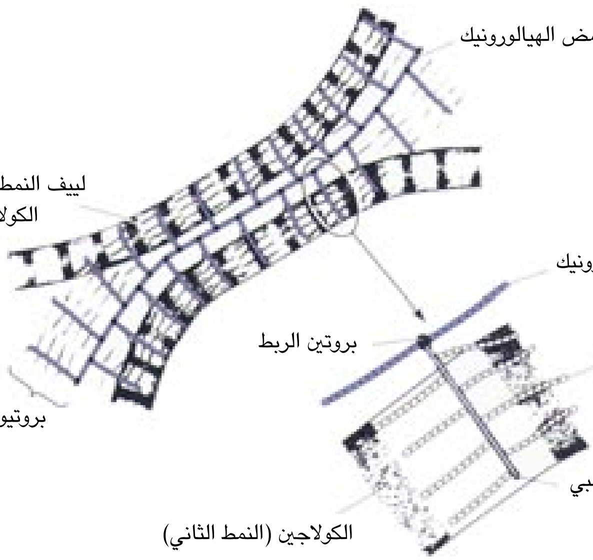
يكون التفاعل II تلقائياً. وتؤمن CA II لناقضات العظم المساهمة في الارتشاف العظمي البروتونات اللازمة لتعديل أيونات الهيدروكسيل السالبة المتروكة داخل الخلية عند ضخ أيونات الهيدروجين H^+ عبر حوافها المجعدة (انظر سابقاً). وهكذا، عندما ينقص نشاط CA II في ناقضات العظم لا يحدث الارتشاف السوي العظمي، ويظهر تصخر العظم. ولم تتضح آلية التكلس الدماغي، في حين يعكس الحماض الكلوي النبيبي عوز نشاط CA II في النبيبات الكلوية.

يعد تخلخل العظام (Osteoporosis) نقصاً مترقياً معمماً في كتلة نسيج العظم في وحدة الحجم، مما يؤدي إلى ضعف هيكلي. ولا تتغير نسبة العناصر المعدنية إلى العناصر العضوية في العظم السوي المتبقي. وتحدث كسور مختلفة في العظام، مثل رأس الفخذ، بسهولة كبيرة وتمثل عبئاً هائلاً على كل المرضى المصابين وعلى ميزانية الرعاية الصحية في المجتمع. ويدرج (الجدول 57-10) بعض العوامل التي يبدو أنها تساهم بشكل كبير في إحداث تخلخل العظام كالإستروجينات والإنترلوكينات 1 و 6.

المكونات الرئيسية للغضروف هي النمط الثاني من الكولاجين وبعض البروتيوجليكانات:

يدرج (الجدول 57-12) البروتينات الرئيسية في الغضروف الهياليني (الزجاجي) (النمط الرئيسي للغضاريف). ويعد النمط الثاني من الكولاجين البروتين الرئيسي هناك (الشكل 57-13)، كما توجد عدة أنماط بسيطة أخرى من الكولاجين. ويحتوي الغضروف المرن بالإضافة إلى ذلك على الإيلاستين، أما الغضروف الليفي المرن فيحتوى على النمط الأول من الكولاجين. ويحتوي الغضروف على عدد من

البروتيوجليكانات التي تلعب دوراً هاماً في قابليته للانضغاط. ويعد الأجريكان (نحو 2×10^3 ك. دالتون) البروتيوجليكان الرئيسي، ويتصف، كما هو مبين في (الشكل 57-14)، ببنية معقدة جداً تحتوي على عدة جليكوز أمينوجليكانات (حمض الهيالورونيك وسلفات الكُندرويتين وسلفات الكيراتان) وكلاً من البروتينات الرابطة واللبية. ويحتوي البروتين اللبي على ثلاثة حقول: A و B و C.



الشكل 57-13 : ترسيم للتعضي الجزيئي في المطرس الغضروفي. تربط بروتينات الربط بشكل غير تساهمي البروتين اللبي (اللون الفاتح) في البروتيوجليكانات مع جزيئات حمض الهيالورونيك الخطية (اللون القاتم). وترتبط سلاسل سلفات الكندرويتين الجانبية للبروتيوجليكان بروابط كهربية ساكنة مع لييفات الكولاجين مشكلة مطرساً مرتبطاً تصالبياً. وتشير الدائرة البيضوية إلى المنطقة المكبرة في الجزء السفلي من الشكل.

ملاحظات	المرض
غالباً ما تنجم عن عوز هرمون النمو ، لكن هناك أسباب عديدة أخرى	القزامة
ينجم عن عوز الڤيتامين D خلال الطفولة	الرخد (الكساح)
ينجم عن عوز الڤيتامين D خلال الكهولة	تلين العظام
يؤدي فرط الهرمون الدريقي إلى ارتشاف العظم	فرط الدريقات (Hyperparathyroidism)
ينجم عن ضروب مختلفة من الطفرات في الجينين *COL1A1* و *COL1A2* تؤثر في تركيب النمط الأول من الكولاجين وبنيته	تكون العظم الناقص (مثال MIM 166200)
يكون الشكل التالي للإياس شائعاً، وأما في الحالات الأخرى فيكون متدرجاً أكثر ومتعلقاً بالعمر ، وينجم عدد صغير من الحالات عن طفرات في الجينَين *COL1A1* و *COL1A2* ، وربما في جين مستقبل الڤيتامين D (MIM 166710)	تخلخل العظام
ينجم عدد صغير من الحالات عن طفرات في الجينات *COL1A*	الفصال العظمي
تنجم عن طفرات في جينات *COL2A1*	حالات خلل التنسج الغضروفي المختلفة
طفرات في الجين المُرمز للمستقبلة الأولى لعامل نمو الأرومات الليفية (FGFR1)	متلازمة فيفر[1] (MIM 100600)
طفرات في الجين المُرمز للمستقبلة الثانية لعامل نمو الأرومات الليفية (FGFR2)	متلازمتي جاكسون ــ ڤايس (MIM 123150) وكروزون (MIM [1]123500)
طفرات في الجين المُرمز للمستقبلة الثالثة لعامل نمو الأرومات الليفية (FGFR3)	الودانة (MIM100800) وخلل التنسج المميت[2] thanatophoric (MIM) 187600)

الجدول 57-11: بعض الأمراض الأيضية والوراثية التي تصيب العظم والغضروف.

1 – تعد متلازمات فيفر (Pfeiffer) وجاكسون – ڤايس وكروزون من متلازمات تعظم الدروز الباكر (craniosynostosis)، وهو مصطلح يشير إلى الالتحام الباكر للدروز في الجمجمة .2 – يعد خلل التنسج المميت (تعني الكلمة الإغريقية thanatos الموتَ، وتعني الكلمة pherein يحمل) أكثر خلل تنسج هيكلي مميت شيوعاً لدى الولدان، ويتظاهر بكسور شبيهة بتلك المشاهدة في شذوذ التنسج الغضروفي متماثل اللواقح

البروتينات	ملاحظات
البروتينات الكولاجينية: النمط الثاني من الكولاجين الأنماط V و VI و IX و X وXI من الكولاجين	90-98 ٪ من إجمالي الكولاجين الغضروفي المفصلي؛ مؤلف من ثلاث سلاسل ألفا 1(II) يرتبط النمط التاسع تصالبياً مع النمط الثاني، ويمكن أن يساعد النمط XI في التحكم بقطر لُييفات النمط الثاني
البروتينات غير الكولاجينية: البروتيوجليكانات: الأجريكان البروتيوجليكان الكبير غير المتكدس DS-PG I (الجليكان الثنائي)[1] DS-PG II (الديكورين) الكُوندرونكتين الأنكورين C II	 البروتيوجليكان الرئيسي في الغضروف يوجد في بعض أنماط الغضروف شبيه بالمركب CS-PGI في العظم شبيه بالمركب CS-PGII في العظم يمكن أن يساهم في ارتباط النمط الثاني من الكولاجين بسطح الغضروف يمكن أن يربط النمط الثاني من الكولاجين بسطح الخلية الغضروفية

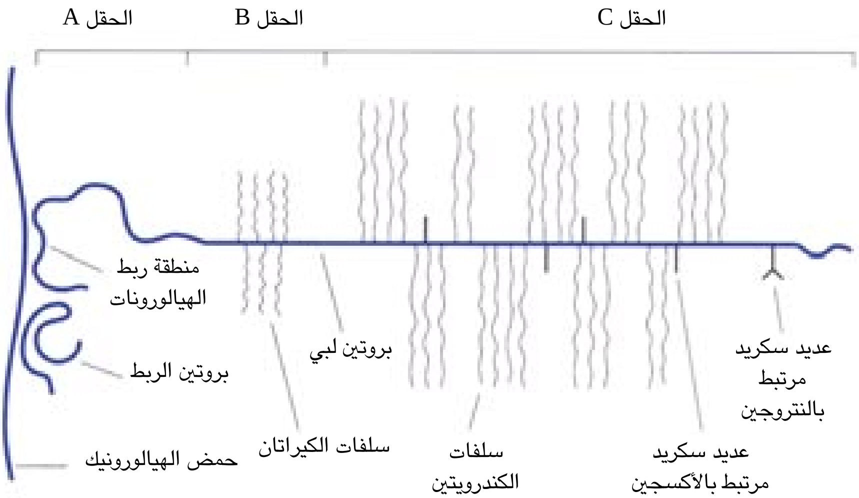
الجدول 57-12: البروتينات الرئيسية الموجودة في الغضروف.

1 تماثل البروتينات اللبية للمركبين DS-PG I و DS-PG II تلك الخاصة بـ CS-PG I و CS-PG II الموجودة في العظم (الجدول 57-9) . والتفسير الممكن يتمثل في أن الأرومات العظمية تفتقر إلى إنزيم الإيبيميراز الضروري لتحويل حمض الجلوكورونيك إلى حمض الإيديورونيك الموجود في سلفات الديرماتان.

يرتبط حمض الهيالورونيك بشكل غير تساهمي بالحقل A من البروتين اللبي وبالبروتين الرابط مما يثبت التآثرات بين ثمالات الهيالورونيك والبروتينات اللبية. وتتوضع سلاسل سلفات الكيراتان في الحقل B في حين تتوضع سلاسل سلفات الكندرويتين في الحقل C وكلاهما يرتبط تساهمياً بالبروتين اللبي. كما يحتوي البروتين اللبي على سلاسل قلائل السكريد ذات الارتباط – O و – N.

تتصف البروتيوجليكانات الأخرى الموجودة في الغضروف ببنى أبسط من الأجريكان. ويساهم الكندرونكتين (Chondronectin) في ارتباط النمط الثاني من الكولاجين بالخلايا الغضروفية.

والغضروف نسيج لا وعائي يحصل على معظم غذياته من السائل الزليلي. ويبدي تقلباً بطيئاً لكنه مستمر. ويمكن أن تقوم إنزيمات البروتياز المختلفة (كإنزيمات الكولاجيناز والستروماليسين) المُخَلَّقَة في الخلايا الغضروفية بتدرك الكولاجين وبروتينات الغضروف الأخرى. ويبدو أن IL-1 و TNF-α ينبهان إنتاج بعض إنزيمات البروتياز، في حين يمارس TGFβ و IGF-1 بوجه عام تأثيراً ابتنائياً في الغضروف.



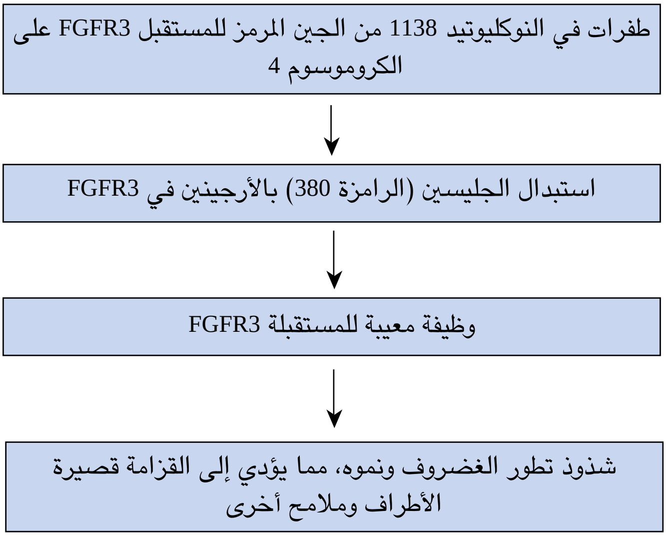
الشكل 14-57 : ترسيم للأجريكان المأخوذ من الغضروف الأنفي البقري. يظهر طاق حمض الهيالورونيك إلى الأيسر، ويتصف البروتين اللبي (نحو 210 ك. دالتون) بثلاثة حقول رئيسية: يتآثر الحقل A عند نهايته المطرافية الأمينية مع نحو 5 سكريدات ثنائية تكرارية من الهيالورونات، ويتآثر بروتين الربط مع كل من الهيالورونات والحقل A فيثبت تآثرهما. وترتبط نحو 30 سلسلة من سلفات الكيراتان مع الحقل B بواسطة الارتباط GalNAc-Ser. ويرتبط بالحقل C نحو 100 سلسلة من سلفات الكندرويتين بالروابط Gal-Gal-Xyl-Ser ونحو 40 سلسلة قلائل السكريد بالارتباط – O. كما ترتبط سلسلة جليكانية أو أكثر قرب المطراف الكربوكسيلي للبروتين اللبي بالارتباط – N.

تتضمن الأسس الجزيئية لشذوذات التنسج الغضروفي طفرات في الجينات المرمزة لمستقبلات النمط الثاني من الكولاجين وعوامل نمو الأرومات الليفية:

تعد شذوذات التَّنسج الغضروفي (Chondrodysplasias) مجموعة مختلطة من الاضطرابات الوراثية التي تصيب الغضروف، وتتظاهر بقزامة قصيرة الأطراف وشذوذات أو تشوهات هيكلية عديدة. وينجم عدد منها عن ضروب مختلفة من الطفرات في الجين *COL2A1* مما يؤدي إلى أشكال شاذة للنمط الثاني من الكولاجين. ومن الأمثلة على ذلك متلازمة ستيكلر (Stickler syndrome) التي تتظاهر بتنكس الغضروف المفصلي والجسم الزجاجي للعين.

الودانة (Achondroplasia) هي أكثر شذوذات تأنسجة الغضروف المعروفة وهي أكثر الأسباب شيوعاً للقزامة قصيرة الأطراف. ويتميز المصابون بقصر الأطراف وسواء حجم الجذع وكبر الرأس وضروب مختلفة من الشذوذات الهيكلية الأخرى. وغالباً ما تكون الحالة وراثية بشكل خلة كروموسومية جسدية سائدة، لكن تنجم عدة حالات عن طفرات جديدة. ويشير (الشكل 57-15) إلى الأساس الجزيئي للودانة التي ليست اضطراباً كولاجينياً، إنما تنجم عن طفرات في الجين المُرمز للمستقبل الثالث لعامل نمو الأرومات الليفية (FGFR3). وتنتمي عوامل نمو الأرومات الليفية إلى فصيلة من 8 بروتينات على الأقل تؤثر في نمو الخلايا ذات الأصل المتوسطي والعصبي الظاهري وتمايزها. وتكون مستقبلاتها بروتينات عابرة للغشاء تشكل مجموعة فرعية من فصيلة كينازات التيروزين. وتعد FGFR3 عضواً في هذه المجموعة الفرعية، وهي تتوسط أفعال FGF3 في الغضروف. ووجد أن الطفرات في معظم حالات الودانة التي خضعت للتحري تشمل النوكليوتيد 1138، وتؤدي إلى استبدال الجليسين بالأرجينين (الثمالة 380) في الحقل عبر الغشاء من البروتين مما يجعله عاطلاً. ولم توجد طفرة مماثلة في الأفراد غير المصابين. كما تنجم شذوذات أخرى في التأنسجة الهيكلي (بما في ذلك بعض متلازمات الارتفاق القحفي ـ التحام الدروز الباكر)، كما هو مشار في (الجدول 57-11)، عن طفرات في الجينات المُرمزة لمستقبلات FGF. وقد وجد أن نمطاً آخر من خلل التنسج الهيكلي (خلل التنسج المعوج (Diastrophic)) يكون ناجماً عن طفرة في أحد نواقل

السلفات. وهكذا، فإن تكنولوجيا الدنا (DNA) المأشوب صاحبة الفضل في ذلك وهي فتح جديد في فهم شذوذات التنسج الهيكلي.



الشكل 57-15: مخطط مبسط لحدوث الودانة (MIM 100800) وجد أنه في معظم الحالات المدروسة بشكل واسع تكون الطفرة عبارة عن انتقال G إلى A عند النوكليوتيد 1138، وكانت الطفرة في بضع حالات تبدال النوكليوتيد نفسه (G) إلى النوكليوتيد C. ويعد هذا النوكليوتيد المخصوص «بقعة حارة» حقيقية لحدوث الطفرة. وتؤدي كلا الطفرتين إلى إحلال ثمالة أرجينين محل ثمالة الجليسين في الشدفة عبر الغشاء من المستقبل. كما أشارت التقارير إلى بضع حالات تشمل استبدال الجليسين بالسيستيين عند الرامزة 375.

الخلاصة:

تضم المكونات الرئيسية للمطرس خارج الخلايا البروتينات البنيوية (الكولاجين والإيلاستين والفيبريلين) وعدداً من البروتينات المتخصصة كالفيبرونكتين واللامينين وعدداً من البروتيوجليكانات.

الكولاجين هو أغزر البروتينات في المملكة الحيوانية، وقد عزل منه نحو 19 نمطاً ويرمز 30 جين لطلائع الكولاجين الببتيدية. وتحتوي كافة الكولاجينات على امتدادات طويلة أو قصيرة من الحلزون الثلاثي. وتوجد البنية التكرارية (Gly-X-Y) n في كافة الكولاجينات، وغالباً ما تكون الثمالات X و Y هي البرولين وهيدروكسي البرولين. كما يوجد أيضاً هيدروكسي الليسيل، الموضع المُحتمل للارتباط بالجليكوزيل.

التخليق الحيوي للكولاجين معقد ويتضمن الكثير من الأحداث بعد الترجمة بما في ذلك إضافة الهيدروكسيل إلى البرولين والليسيل. وتشتمل الأمراض التي ترافق اضطراب تخليق الكولاجين على البثع وتكون العظم الناقص ومتلازمة إهلرز ـ دانلوس (أنماط عدة) ومتلازمة مينكيس. ويمنح الإيلاستين للأنسجة خاصتي السحوبية والارتداد المرن. ولم يكشف سوى جين واحد للإيلاستين في البشر. ويحتوي الإيلاستين على هيدروكسي البرولين، لكنه يفتقر إلى هيدروكسي الليسيل ومتواليات Gly-X-Y والبنى الحلزونية الثلاثية والسكاكر. كما يحتوي على ارتباطات تصالبية للديزموزين والإيزوديزموزين غير موجودة في الكولاجين.

يتوضع الفيبريلين في الليفات المكروية المرافقة للإيلاستين. وتؤدي الطفرات في جين الفيبريلين إلى متلازمة مارفان. ويعد الفيبرونكتين بروتيناً سكرياً هاماً في التصاق الخلايا وهجرتها. أما اللامينين فهو مكون هام للصفائح القاعدية، كتلك الموجودة في الكبيبة الكلوية.

تتألف الجليكوز أمينوجليكانات من ثنائيات سكريد تكرارية تحتوي على حمض اليورونيك (الجلوكورونيك أو الإيديورونيك) أو هيكسوز (الجالاكتوز) وعلى هيكسوزامين (الجالاكتوزامين أو الجلوكوزامين). كما توجد السلفات بشكل شائع، والجليكوز أمينوجليكانات هي حمض الهيالورونيك وسلفات الكيراتان I و II و

الكُندرويتين 4 – سلفات والكندرويتين 6 – سلفات والهيبارين وسلفات الهيباران وسلفات الديرماتان. وتخلق الجليكوز أمينوجليكانات من خلال الأفعال المتتالية لمجموعة من الإنزيمات النوعية (ناقلات الجليكوزيل وإنزيمات الإيبيميراز وناقلات السلفات... إلخ)، وتتدرك من خلال الأفعال المتتالية لإنزيمات الهيدرولاز اليحلولية. وتؤدي الأعواز الوراثية للإنزيمات الأخيرة إلى أدواء عديدات السكريد المخاطية (كمتلازمة هيرلر).

ترتبط الجليكوز أمينوجليكانات في الأنسجة ببروتينات مختلفة (بروتينات ربط وبروتينات لبية) مكونة البروتيوجليكانات التي غالباً ما تكون ذات وزن جزيئي مرتفع جداً وتقوم بعدة وظائف في الأنسجة. وترتبط عدة مكونات في المطرس خارج الخلايا (كبعض الجليكوز أمينوجليكانات والبروتينات كالفيبرونكتين واللامينين) ببروتينات على سطح الخلايا تدعى الإنتجرينات، وهذا ما يشكل أحد الطرق التي تستطيع من خلالها أقسام الخلية الخارجية التواصل مع أقسامها الداخلية.

يعد العظم والغضروف أشكالاً متخصصة من المطرس خارج الخلوي. ويكون النمط الأول من الكولاجين وهيدروكسي الآباتيت مقومين أساسيين في العظم الذي يحتوي على عدد من البروتينات الصغيرة التي قد تقوم بوظائف هامة. ويكون النمط الثاني من الكولاجين وبعض البروتيوجليكانات من المقومات الرئيسية للغضروف. وقد أمكن معرفة الأسباب الجزيئية لعدد من الأمراض العظمية الوراثية (كتكون العظم الناقص) والغضروفية (كالحثول الغضروفية) بتطبيق تكنولوجيا الدنا (DNA) المأشوب.

*** References:**

Beighton P et al Ehlers-Danlos syndromes: Reviewed nosology, Villefranche,1997. Ehlers-Danlos National Foundation (USA) and Ehlers-Danlos Support Group (UK). *Am J Med Genet* 1998;77:31.

Bikle DD: Biochemical markers in the assessment of bone diseases. *Am J Med* 1997;103:427.

Bilezikian JP et al (editors): *Principles of Bone Biology*. Academic Press, 1996.

Burke D et al: Fibroblast growth factor receptors: Lessons from the genes. *Trends Biochem Sci* 1998;23:59.

Byers PH: Disorders of collagen biosynthesis and structure In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*,7th ed. Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 1995.

Francomano CA: The genetic basis of dwarfism. *N Eng1 J Med* 1995;332:58.

Fuller GM, Shields D: *Molecular Basis of Medical Cell Biology*. Appleton & Lange,1998.

Manolagas SC, Jilka RL: Bone marrow, Cytokines, and bone remodeling: Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Engl J Med* 1995;332:305.

Neufeld EF, Muenzer J: The mucopolysaccharidoses In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed . Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 1995.

Prockop DJ, Kivirikko KI: Collagens: Molecular biology, diseases, and potential therapy. *Annu Rev Biochem* 1995;64:403.

Ramirez F et al: Marfan Syndrome and related disorders In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed . Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 1995.

Reddi AH; Role of morphogenetic proteins in skeletal tissue engineering and regeneration. *Nat Biotechnol* 1998;16:23.

Schumacher HR, Klippel JH, Koopman WJ (editors) *Primer on the Rheumatic Disease*, 10 th ed. Arthritis Foundation, 1993. (contains sections on articular cartilage, bone, collagen and elastin, proteoglycans, heritable disorders of connective tissue, and metabolic bone diseases).

الفصل الثامن والخمسون

العضل وهيكل الخلية

Muscle and the Cytoskeletion

مقدمة:

تفيد البروتينات في وظائف غير التحفيز، وقد شرحت وظائف التنظيم والإشعار والتعرف والنقل والتكوين البنيوي للبروتينات في فصول سابقة. وتلعب البروتينات دوراً هاماً في الحركة على المستويين العضوي (كالعضل الهيكلي والقلب والأمعاء) والخلوي. وسنشرح في هذا الفصل أدوار بعض البروتينات وبعض الجزيئات الرئيسية الأخرى (مثل أيونات الكالسيوم) في التقلص العضلي.

الأهمية الطبية البيولوجية:

لقد تلقى فهم الأساس الجزيئي للأمراض الوراثية الرئيسية دفعة هامة عام 1986 من خلال النجاح في تنسيل الجين الخاص بالحثل العضلي من نمط دوشين (Duchenne-type muscular dystrophy)، وقد أعطى هذا الإنجاز وعوداً كبيرة بالتشخيص الدقيق لهذا المرض وإمكانية معالجته (انظر الحالة رقم 6 في الفصل 56). كما حدث تطور هام في فهم الأساس الجزيئي لفرط الحرارة الخبيث (Malignant hyperthermia)، أحد المضاعفات الخطيرة لأنماط معينة من التخدير. ولقد تبين أن هذه الحالة ناجمة عن تراكم شاذ لأيونات الكالسيوم في هيولى الخلايا العضلية الهيكلية مما يؤدي إلى الصمل وتولد حرارة مفرطة. وينجم ارتفاع مستوى أيونات الكالسيوم في بعض الحالات على الأقل عن طفرة في الجين البنيوي الخاص بقناة إطلاق أيونات الكالسيوم من الشبكة العضلية الهيولية. وتتصف هذه

الحالة أيضاً بمقتضيات مالية هامة بالنسبة إلى الصناعة المعتمدة على الخنازير، لأن اضطراباً مشابهاً يحدث في الخنازير المعرضة للكروب. ويعد قصور القلب حالة طبية شائعة جداً تقف وراءه ضروب مختلفة من الأسباب وتتطلب معالجته المنطقية فهماً للكيمياء الحيوية الخاصة بالعضل القلبي. ومن بين الاضطرابات التي تؤدي إلى قصور القلب نذكر اعتلالات العضل القلبي التي يكون بعضها محدداً وراثياً. ولقد بينت الأبحاث الحديثة أن الطفرات في جين السلاسل الثقيلة للميوسين ـ بيتا القلبي هي من أسباب اعتلال العضل القلبي الضخامي العائلي. ومن التطورات الحديثة المدهشة الاكتشاف أن العامل المرخي المشتق من البطانة الذي يخلق من قبل الخلايا البطانية التي تنظم المقوية (التوتر) العضلية في العضل الأملس هو غاز أكسيد النتريك (NO). وتعمل الكثير من موسعات الأوعية واسعة الاستخدام، مثل النتروجليسيرين، المستخدمة في معالجة الذبحة الصدرية من خلال زيادة تشكيل هذا المركب. ومن المكتشفات المفاجئة بالدرجة نفسها أيضاً اكتشاف أن NO هو ناقل عصبي. ويعد احتشاء العضل القلبي شائعاً جداً، وقد شرحت بعض الأوجه الكيميائية الحيوية لهذه الحالة في الحالة رقم 4 في (الفصل 56).

يترجم العضل الطاقة الكيميائية إلى طاقة ميكانيكية:

يعد العضل الترجام (محول الطاقة) الكيميائي الحيوي الرئيسي (الآلة) الذي يحول الطاقة الكامنة (الكيميائية) إلى طاقة حركية (ميكانيكية). ويشكل العضل، وهو أكبر نسيج في جسم الإنسان، نحو أقل من 25 ٪ من كتلة الجسم عند الولادة، وأكثر من 40 ٪ في البالغين الشباب، ونحو أقل من 30 ٪ في البالغين الكهول.

ينبغي على الترجام الكيميائي الميكانيكي الفعال أن يلبي عدة متطلبات:

(1) أن يوجد إمدادا مستمرا بالطاقة الكيميائية، ففي عضل الفقاريات يقوم بذلك الأتب (ATP) وفسفات الكرياتين.

(2) أن توجد وسيلة لتنظيم النشاط الميكانيكي، أي سرعة التقلص ومدته وقوته في حالة العضل.

(3) أن تكون الآلة موصولة بمشغل (Operator)، وتؤمن الجملة العصبية هذا الشرط في الأنظمة البيولوجية.

(4) وجود طريقة لإعادة الآلة إلى حالتها الأصلية.

في الفقاريات، تجري تلبية المتطلبات السابقة والحاجات النوعية لهذه الكائنات الحية عبر ثلاثة أنماط من العضل: العضل الهيكلي وعضل القلب والعضل الأملس. ويبدو كل من العضل الهيكلي وعضل القلب بشكل مخطط (Striated) تحت المجهر، أما العضل الأملس فيبدو غير مخطط. ورغم أن العضل الهيكلي يكون تحت تحكم عصبي إرادي، يكون هذا التحكم في العضل القلبي والأملس لا إرادياً.

تحتوي الهيولى العضلية في الخلايا العضلية على الأتب (ATP) والفسفوكرياتين وإنزيمات تحلل السكر:

يتكون العضل المخطط من خلايا ليفية عضلية عديدة النوى يحيط بها غشاء بلازمي قابل للاستثارة الكهربائية يسمى غمد الليف العضلي (Sarcolemma) ويحتوي كل ليف عضلي خلوي، والذي قد يمتد على طول العضلة بكاملها، على حزمة من اللييفات العضلية (Myofibrils) مرتبة بشكل متواز ومسجاة في سائل داخل الخلايا يدعى الهيولى العضلية (Sarcoplasm). ويوجد ضمن هذا السائل الجليكوجين ومركبات عالية الطاقة (الأتب (ATP) والفسفوكرياتين) وإنزيمات تحلل السكر.

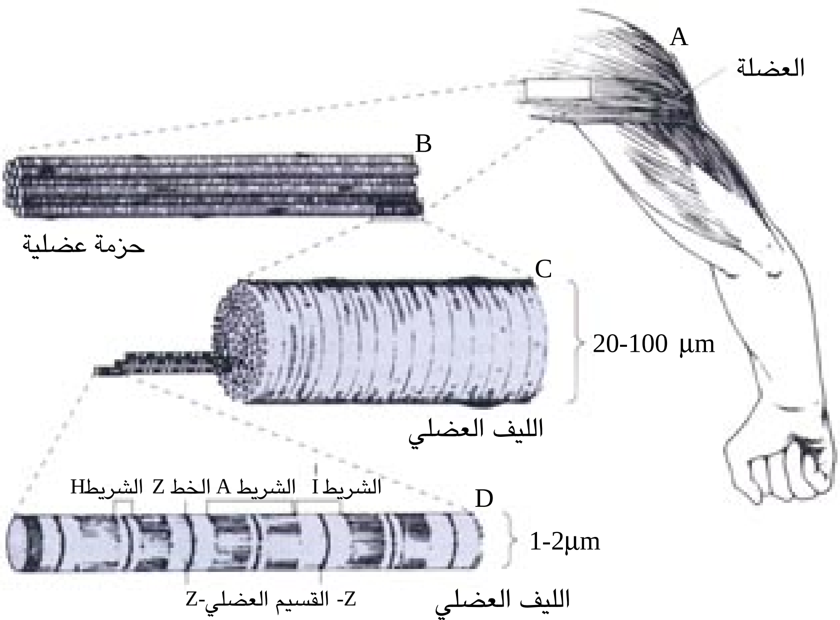
يعد القسيم العضلي هو الوحدة الوظيفية للعضل:

يبين (الشكل 58-1) منظراً عاماً للعضل الإرادي عند عدة مستويات. فعند فحص الليف العضلي بالمجهر الإلكتروني يمكن ملاحظة أشرطة قاتمة وأخرى فاتحة بشكل متناوب (أشرطة غير متسقة الاتجاه (Anisotropic)، أي ثنائية الانكسار في الضوء المستقطب؛ وأشرطة متسقة الاتجاه (Isotropic) أي تتبدل في الضوء المستقطب). تدعى هذه الأشرطة باسم الأشرطة A والأشرطة I على الترتيب، وتبدو المنطقة

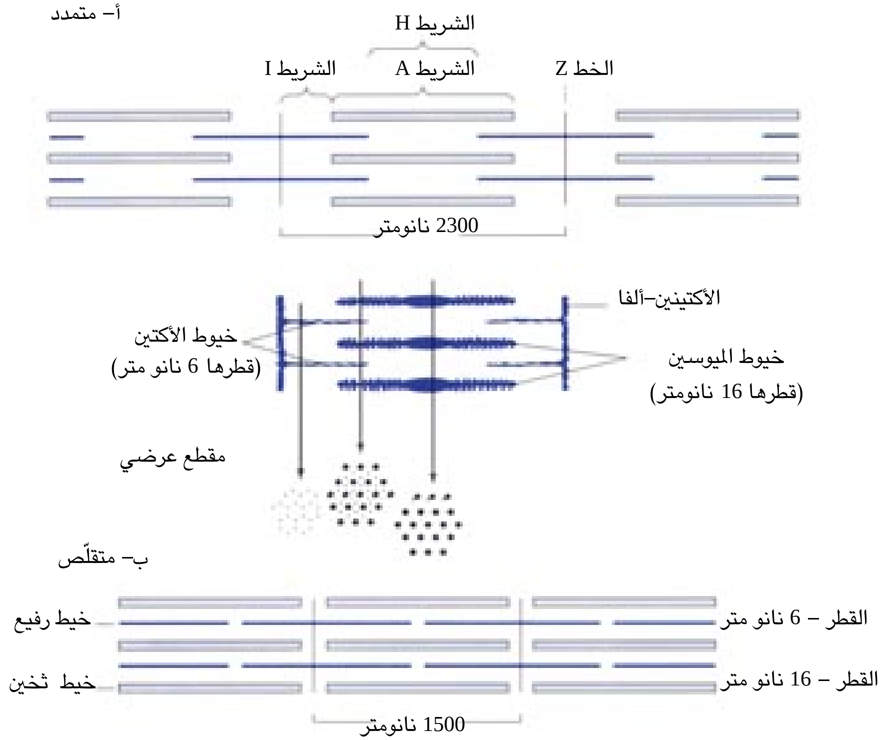
المركزية من الشريط A (الشريط H) أقل كثافة من بقية الشريط. ويكون الشريط I مقطوعاً بخط ضيق وكثيف جداً هو الخط Z (الشكل 58-2).

يعرف القسيم العضلي (Sarcomere) بأنه المنطقة المحصورة بين خطين من الخطوط Z (الشكلان 58-1 و 58-2)، وهو يتكرر على طول محول الليف على مسافات 2500 – 2300 نم حسب حالة التقلص.

ينجم المظهر المخطط للعضل الإرادي والقلبي في الدراسات بالمجهر الضوئي عن الدرجة العالية من التنظيم الناجمة عن اصطفاف معظم خلايا الألياف العضلية وتراصفها بشكل تكون معه قسيماتها العضلية بحالة متوازية (الشكل 58-1).



الشكل 58-1 : بنية العضل الإرادي. القسيم العضلي هو المنطقة المحصورة بين خطين متتاليين من الخطوط Z.
[µm = ميكرومتر]



الشكل 58-2 : ترتيب الخيوط في العضل المخطط. أ: متمدد، يبين مواضع الأشرطة I و A و H في حالة الخيوط المتمددة، وتتداخل الخيوط الرفيعة جزئياً مع نهايات الخيوط الثخينة، وتبدو الخيوط الرفيعة متصلة في الخطوط Z (تدعى الأقراص Z غالباً). وفي الجزء السفلي من (الشكل 58-2) (أ) تظهر «رؤوس الأسهم» منبعثة من خيوط الميوسين (الثخينة) في اتجاهين متعاكسين، كما تظهر 4 خيوط أكتين (الرفيعة) متصلة بخطي Z بواسطة الأكتينين ألفا. وتدعى المنطقة المركزية من خيوط المَيوسين الثلاثة، الخالية من رؤوس الأسهم، بالشريط M (غير موضح هنا). وتظهر مقاطع عرضية عبر الأشرطة M، من خلال منطقة تتداخل فيها خيوط المَيوسين والأكتين ومنطقة توجد فيها خيوط الأكتين فقط.
(ب) متقلص، تبدو خيوط الأكتين وقد انزلقت على جانبي ألياف الميوسين واقترب بعضها من بعض، ولا تتغير أطوال الخيوط الثخينة (مشار إليها بالأشرطة A) والخيوط الرفيعة (المسافة بين الخطوط Z والحواف المتاخمة للأشرطة H)، ولكن أطوال القسيمات العضلية تنقص (من 2300 نم – 1500 نم) كما تنقص أطوال الأشرطة H و I بسبب التداخل بين الخيوط الثخينة والرفيعة. وقد كانت هذه الملاحظات المورفولوجية الأساس لنموذج الخيوط المنزلقة للتقلص العضلي.

تحتوي الخيوط الثخينة على الميوسين والخيوط الرفيعة على الأكتين والتروبوميوسين والتروبونين:

عند تفحص الألياف العضلية بالمجهر الإلكتروني، يبدو كل منها مكوناً من نمطين من الخيوط الطولانية، ويحتوي النمط الأول (الخيط الثخين) المحصور بالشريط A على بروتين الميوسين بشكل رئيسي. ويكون قطر هذه الخيوط نحو 16 نم، وتكون مرتبة في المقطع العرضي بشكل مصفوفة سداسية الأضلاع (الشكل 58-8، في الوسط، مقطع عرضي أيمن).

أما الخيط الثاني (الخيط الرفيع) فقطره نحو 7 نم ويتوضع في الشريط I ويمتد ضمن مسافة الشريط A دون أن يصل إلى المنطقة Z (الشكل 58-2). وتحتوي الخيوط الرفيعة على بروتينات الأكتين والتروبوميوسين والتروبونين (الشكل 58-3). وفي الشريط A، تكون الخيوط الرفيعة مرتبة حول الخيط الثخين (الميوسين) بشكل مصفوفة ثانوية سداسية الأضلاع. ويتوضع كل خيط رفيع بشكل متناظر بين ثلاثة خيوط ثخينة (الشكل 58-2، في الوسط، المقطع العرضي الأوسط)، ويكون كل خيط ثخين محاطاً بشكل متناظر بستة خيوط رفيعة.

وتتآثر الخيوط الثخينة والرفيعة بواسطة جسور تصالبية تظهر كل 14 نم على طول الخيوط الثخينة. وكما هو مبين في (الشكل 58-2)، يكون للجسور التصالبية (المرسومة بشكل رؤوس أسهم عند نهاية كل من خيوط الميوسين لكنها لم تبين على أنها تمتد بشكل كامل عبر الخيوط الرفيعة) أقطاب متعاكسة عند نهايات الخيوط الثخينة، ويكون قطبا الخيوط الثخينة مفصولين بشدفة طولها 150 نم (الشريط M، غير موسوم في الشكل) وخالية من النتوءات.

تفكيرنا الراهن حول التقلص العضلي مبني على نموذج الجسور التصالبيَة للخيوط الانزلاقية :

لقد اقترح هذا الطراز بشكل مستقل في الخمسينات كل من هنري هوكسلي (Henry Huxley) وأندرو هوكسلي (Andrew Huxley) وزملائهما. وقد كان معتمداً بشكل كبير على الملاحظات المورفولوجية الدقيقة على العضل في حالات الراحة

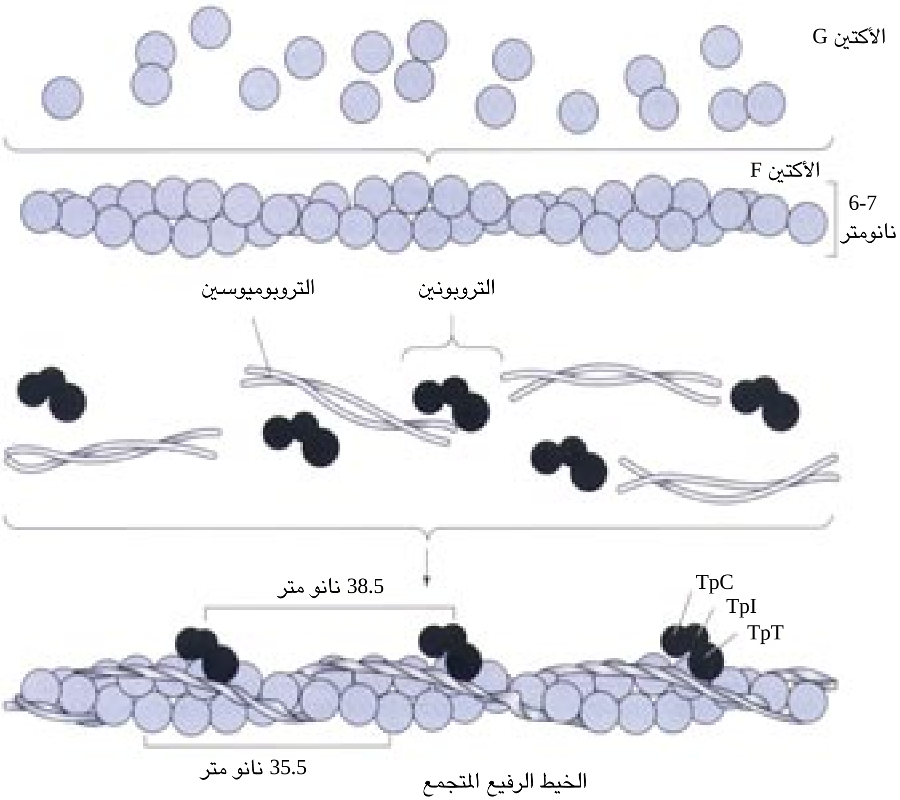
والانبساط والتقلص. وعندما يتقلص العضل، لا يكون هناك تغير في أطوال الخيوط الثخينة والرفيعة، غير أن المناطق H والأشرطة I تقصر (انظر الشكل 58-2). وهكذا، يجب أن تنزلق مصفوفات الخيوط المتداخلة بعضها على بعض خلال التقلص. وتقوم الجسور التصالبية التي تربط الخيوط الثخينة بالخيوط الرفيعة بتوليد التوتر (Tension) والمحافظة عليه عند مراحل معينة من دورة التقلص. ويكون هذا التوتر متناسباً مع مدى تداخل الخيوط وعدد الجسور التصالبية. ويتصل كل من الجسور التصالبية بالخيط الثخين عبر شدفة ليفية قابلة للانثناء يمكنها أن تنحني إلى الخارج اعتباراً من الخيط الثخين. وتيسر هذه الشدفة القابلة للانثناء تماس الرأس مع الخيط الرفيع عند الضرورة لكنها تكون طيعة بشكل كاف أيضاً في الحيز بين الخيوط.

يعد الأكتين والميوسين البروتينين الرئيسيين في العضل:

يشكل الماء 75 ٪ من كتلة العضل الطازج، أما البروتينات فنسبتها تتجاوز القيمة 20 ٪، ويكون الأكتين والميوسين هما البروتينان الرئيسيان.

يشكل الأكتين G الموحودي (43 ك. دالتون؛ G =الكروي) زهاء 25 ٪ من البروتين العضلي وزناً. وفي ظل القوة الأيونية الفيزيولوجية، ووجود أيونات المغنيسيوم، يتبلمر الأكتين G بشكل غير تساهمي لتشكيل خيط حلزوني مضاعف غير ذواب يدعى الأكتين F (الشكل 58-3). ويكون ليف الأكتين F بثخانة 6-7 نم ويتصف ببنية تتكرر كل 35.5 نم.

تشكل الميوسينات فصيلة من البروتينات تم اكتشاف 15 عنصراً منها على الأقل. والمَيوسين المشروح في هذا الفصل هو المَيوسين II، وعندما يذكر المَيوسين في هذا الكتاب نعني به هذا الميوسين ما لم يذكر خلاف ذلك. وأما الميوسين I فهو نوع موحودي يرتبط بالأغشية الخلوية ويمكن أن يفيد كرابط بين الخُييطات (الخيوط المكروية (Microfilaments)) والغشاء الخلوي في بعض المواضع.



الشكل 58-3 : مخطط ترسيمي للخيط الرفيع يبدي الهيئة الفراغية لمكوناته البروتينية الرئيسة الثلاث: الأكتين والمَيوسين والتروبوميوسين. يبدي الرسم العلوي جزيئات الأكتين G المفردة، أما الأوسط فيبدي مواحيد الأكتين وهي متجمعة على شكل أكتين F. ويظهر في الشكل أيضاً جزيئات التروبوميوسين (طاقان ملتفان حول بعضهما بعضاً) والتروبونين (المكون من وحيداته الثلاث). وأما الرسم السفلي فيبدي الخيط الرفيع المتجمع، وهو يتألف من الأكتين F والتروبوميوسين والوحيدات الثلاث للتروبونين (TpC و TpI و TpT).

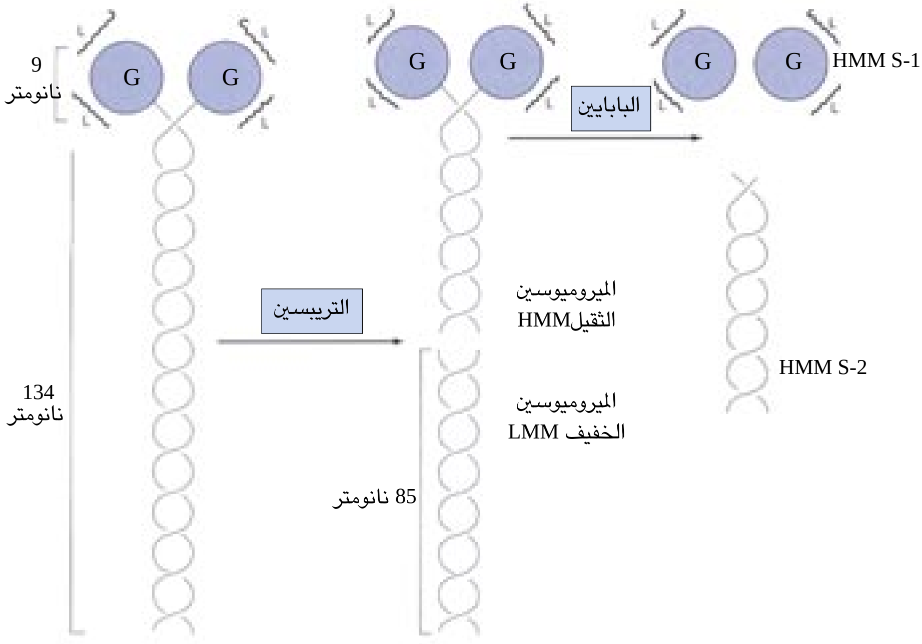
يساهم الميوسين في 55 ٪ من البروتين العضلي وزناً، ويشكل الخيوط الثخينة وهو سداسي غير متناظر كتلته الجزيئية نحو 460 ك. دالتون وله ذيل ليفي مكون من حلزونين ملتفين أحدهما على الآخر. ولكل حلزون رأس كروي متصل عند إحدى نهايتيه (الشكل 58-4). ويتكون المسدوس (Hexamer) من زوج واحد من السلاسل الثقيلة H، الكتلة الجزيئية لكل منها نحو 200 ك. دالتون، وزوجين من السلاسل الخفيفة L، كتلة كل منهما الجزيئية نحو 20 ك. دالتون. وتختلف السلاسل الخفيفة، فتدعى إحداهما السلسلة الخفيفة الأساسية والثانية السلسلة الخفيفة المنظمة. ويرتبط الميوسين في العضل الهيكلي بالأكتين لتشكيل الأكتوميوسين (الأكتين ـ ميوسين) وتتعزز فعالية الأتباز الكامنة فيه بشكل واضح في هذا المعقد. وتوجد نظائر الميوسين بكميات يمكن أن تختلف في الحالات التشريحية والفيزيولوجية والباثولوجية المختلفة. لقد أمكن تعيين بنى الأكتين ورأس الميوسين بتصوير البلورات، وقد كشفت هذه الدراسات عدداً من الموجودات الأولية المتعلقة ببُناها، وأعطت أيضاً بداية للمزيد من المعلومات الجديدة.

ساعد الهضم المحدود للميوسين بإنزيمات البروتياز على إيضاح بنيته ووظيفته:

يولد هضم الميوسين بالتريبسين شدفتين (الميروميوسينات (Meromyosins)) ويتألف الميروميوسين الخفيف (LMM) من ألياف حلزونية ألفا متكدسة غير ذوابة مشتقة من ذيل المَيوسين (الشكل 58-4) ولا يبدي نشاطاً أتبازياً كما لا يرتبط بالأكتين F.

أما الميروميوسين الثقيل يكون (HMM، كتلته الجزيئية نحو 340 ك. دالتون) بروتين ذواب يتألف من جزء ليفي وجزء كروي معاً (الشكل 58-4) ويبدي نشاطاً أتبازياً ويرتبط بالأكتين F. ويولد هضم HMM بالبابايين شديفتين (S-1 و S-2). الشدفة الثانية ذات طبيعة ليفية وليس لها نشاط أتبازي كما لا ترتبط بالأكتين F. أما الشدفة S-1 (كتلتها الجزيئية نحو 115 ك. دالتون) فتبدي نشاطاً أتبازياً وتربط السلاسل الخفيفة، كما ترتبط بغياب الأتب (ATP) مع الأكتين وتؤدي إلى زخرفة

الأكتين برؤوس الأسـهم (الشكل 58-5). ويبدي كل من S-1 و HMM نشاطاً أتبازياً يزداد حـتى 100–200 ضـعف عند الارتبـاط مـع الأكـتين F. ويؤدي الأكـتين F كـمـا سيـشرح لاحـقاً إلى تعـزيز كـبـير لسـرعة إطلاق أتباز الميـوسين لنواتجـها (الأدب (ADP) وجذر الفسفات). وهكذا، رغم أن الأكتين F لا يؤثر في خطوة الحلمـهة بحد ذاتها، إلا أن قـدرته على تحـريض إطلاق النواتج الناجمـة عن نشـاط الأتبـاز تسـرع بشكل كبير المعدل الإجمالي للتحفيز.



الشكل 58-4 : مخطط لجزيء الميوسين يبدي الحلزونين ألفا الملتفين أحدهما على الآخر (الجزء الليفي) والمنطقة الكروية أو الرأس G والسلاسل الخفيفة L وتأثيرات التشطر الحال للبروتين بالتريبسين والبابايين. تحتوي المنطقة الكروية (رأس الميوسين) موضعاً رابطاً للأكتين وموضعاً رابطاً للسلاسل الخفيفة، وتتصل أيضاً ببقية جزيء الميوسين.



الشكل 58-5 : زخرفة خيوط الأكتين بالشدف S-1 للميوسين لتشكيل «رؤوس الأسهم».

تقود تغيرات هيئة رأس الميوسين عملية التقلص العضلي:

كيف يمكن أن تؤدي حلمهة الأتب (ATP) إلى إنتاج حركة عيانية؟ يتكون التقلص العضلي بشكل أساسي من ارتباط الرأس S-1 للميوسين بخيوط الأكتين F وانفصاله عنها بشكل دوري. ويمكن وصف هذه العملية أيضاً على أنها تشكيل للجسور التصالبية وتحطيمها. ويتبع ارتباط الأكتين بالميوسين تغيرات شكلية ذات أهمية خاصة للرأس S-1، وتعتمد طبيعتها على النوكليوتيد المرتبط (الأدب (ADP)) أو الأتب (ATP) وتؤدي هذه التغيرات إلى ضربة الطاقة (Energy stroke) التي تقود حركة خيوط الأكتين خلال خيوط الميوسين. ويجري تأمين الطاقة اللازمة لضربة القدرة أو الطاقة في نهاية الأمر بواسطة الأتب (ATP) الذي يحلمه إلى الأدب (ADP) وجذر الفسفات. وتحدث ضربة القدرة نتيجة تغيرات شكلية في رأس الميوسين عندما ينفصل عنه الأدب (ADP).

يمكن تمثيل الأحداث الكيميائية الحيوية التي تجري خلال دورة واحدة من التقلص العضلي والارتخاء بالخطوات الخمس المبينة في (الشكل 58-6):

1 – في طور الارتخاء من دورة التقلص العضلي، يحلمه الرأس S-1 للميوسين

مركب الأتب (ATP) إلىADP وفسفات تبقى مرتبطة به. ويكون معقد الأدب (ADP) والفسفات والميوسين الناتج مشحوناً بالطاقة، وفي شكل يدعى الهيئة عالية الطاقة.

2 – عندما ينبه تقلص العضل (بواسطة الأحداث المشروحة لاحقاً والتي تشمل أيونات الكالسيوم والتروبونين والتروبوميوسين والأكتين)، يصبح الأكتين سهل المنال ويكشفه رأس الميوسين S-1 ويربطه ويشكل معقد الأكتين ـ الميوسين ـ الأدب (ADP) ـ جذر الفسفات المشار إليه.

3 – يحرض تشكيل هذا المعقد إطلاق جذر الفسفات فتبدأ ضربة القدرة. ويلي ذلك إطلاق الأدب (ADP) الأمر الذي يترافق بتغير شكلي كبير في رأس الميوسين نسبة إلى ذيله (الشكل 58-7)، فيسحب الأكتين نحو 10 نم باتجاه مركز القسيم العضلي، وهذه هي ضربة القدرة. ويكون الميوسين حينها بحالة تدعى الهيئة منخفضة الطاقة التي يشار إليها باسم الأكتين ـ ميوسين.

4 – يرتبط جزيء آخر من الأتب (ATP) بالرأس S-1 مشكلاً معقد الأكتين ـ الميوسين ـ الأتب (ATP).

5 – يتصف معقد الميوسين ـ الأتب (ATP) بألفة منخفضة تجاه الأكتين، وبذلك يتحرر الأكتين من الارتباط. وهذه الخطوة الأخيرة هي المكونة الرئيسية لعملية الارتخاء، وتعتمد على ارتباط الأتب (ATP) بمعقد الأكتين ـ ميوسين.

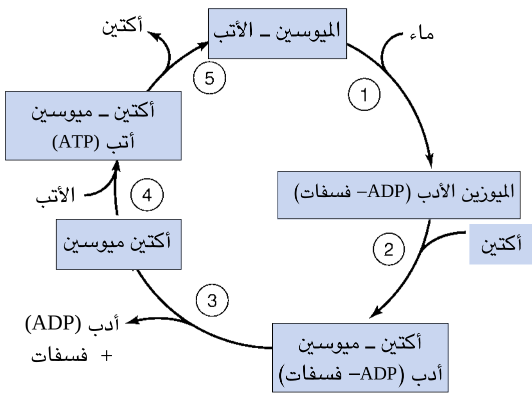
ثم تبدأ دورة أخرى بحلمهة الأتب (ATP) (الخطوة الأولى في الشكل 58-6)، وتتشكل من جديد الهيئة عالية الطاقة.

وهكذا، تستخدم حلمهة الأتب (ATP) لقيادة الدورة، ويكون التغير الشكلي في الرأس S-1 الذي يحدث عند إطلاق الأدب (ADP) هو ضربة القدرة الفعلية. وتسمح المناطق المفصلية من الميوسين (تدعى باسم النقاط القابلة للانثناء عند كل نهاية للـ S-2 موضحة في الشكل 58-7) بمجال كبير من حركة S-1، كما تسمح له بإيجاد خيوط الأكتين.

عندما تنخفض مستويات الأتب (ATP) داخل الخلايا (كما يحدث بعد الموت)، لا يصبح الأتب (ATP) متوفراً لربط الرأس S-1 (الخطوة الرابعة سابقاً)، ولا يتفارق

الأكتين ولا يحدث الارتخاء (الخطوة الخامسة). وهذا ما يفسر الصمل الموتي (Rigor mortis) أو تيبس الجسد بعد الموت.

لقد أشارت الحسابات إلى أن كفاءة التقلص تعادل القيمة 50 ٪ تقريباً، وأما كفاءة آلة الاحتراق الداخلي فهي أقل من 20 ٪.



الشكل 6-58 : تقود حلمهة الأتب (ATP) الارتباط والتفارق الدوريين للأكتين والميوسين في خمسة تفاعلات مشروحة في النص.

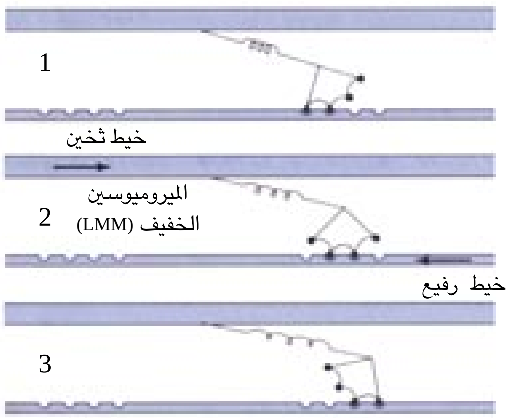
يقوم التروبوميوسين ومعقد التروبونين الموجودان في الخيوط الرفيعة بوظائف أساسية في العضل المخطط:

يوجد في العضل المخطط بروتينان آخران صغيران كتلياً، هامان وظيفياً.

التروبوميوسين (Tropomyosin) هو جزيء ليفي يتكون من سلسلتين ألفا وبيتا تتصلان بالأكتين F في التلم (Groove) المتشكل بين خيوطه (الشكل 58-3)، ويوجد التروبوميوسين في كافة البنى العضلية وشبه العضلية.

ويكون معقد التروبونين (Troponin) مميزاً للعضل المخطط، ويتكون من ثلاثة عديدات ببتيد: التروبونين T (TpT) الذي يرتبط بالتروبوميوسين بالإضافة إلى

مكوني التروبونين الآخرين؛ والتروبونين I (TpI) الذي يثبط تآثر الأكتين F مع الميوسين ويرتبط أيضاً مع المكونات الأخرى للتروبونين؛ والتروبونين C (TpC) الذي هو عبارة عن عديد الببتيد الرابط للكالسيوم الذي يضاهي بنيوياً ووظيفياً الكالمودولين (Calmodulin) وهو بروتين هام رابط للكالسيوم يتوزع بشكل واسع في الطبيعة). وتربط أربعة جزيئات من أيونات الكالسيوم كل جزيء من التروبونين C أو الكالمودولين، ويكون لكلا الجزيئين كتلة جزيئية قدرها 17 ك. دالتون.



الشكل 58-7: تمثيل الروابط التصالبية النشيطة بين الخيوط الثخينة والرفيعة. (لقد تبنى هذا المخطط أ. ف هوكسلي من هـ. ي. هوكسلي: آلية التقلص العضل. وقد اقترح الأخير أن) القوة المساهمة في التقلص العضلي تنشأ من ميل رأس الميوسين (S-1)إلى الدوران نسبة للخيط الرفيع، فينتقل إلى الخيط الثخين بواسطة الجزء (S-2) لجزيء المَيوسين الذي يعمل كارتباط غير قابل للتمدد. وتسمح النقاط القابلة للثني عند كل نهاية من S-2 بدوران S-1 والسماح بحدوث تباين في الفصل بين الخيوط. ويعتمد الشكل الحالي على مقترح هـ. ي. هوكسلي، لكنه يأخذ بعين الاعتبار أيضاً العناصر المرنة (الوشائع في الجزء S-2) وعناصر التقاصر المتدرج (موضحة هنا بأربعة مواضع للتآثر بين الجزء S-1 والخيط الرفيع). وتكون قوى ارتباط المواضع المتصلة أعلى في الموضع 2 منها في الموضع 1، وأعلى في الموضع 3 منها في الموضع 2. ويمكن أن ينفصل رأس الميوسين عن الموضع 3 باستخدام جزيء أتب (ATP)، وهو السائد خلال التقاصر. ويختلف رأس الميوسين في موضعه من نحو 90 درجة إلى 45 درجة تقريباً كما هو مشار في النص (S-1: رأس الميوسين؛ S-2 : جزء من جزيء الميوسين؛ LMM: الميروميوسين الخفيف) (انظر الشكل 58-4).

تلعب أيونات الكالسيوم دوراً مركزياً في تنظيم التقلص العضلي:

رغم أن تقلص العضلات بكافة أنواعها يحدث بالآلية العامة الموصوفة آنفاً إلا أن للعضلات في مختلف الكائنات الحية ومختلف الخلايا والأنسجة ضمن الكائن الحي نفسه آليات جزيئية مختلفة مسؤولة عن تنظيم التقلص والارتخاء لديها. وتلعب أيونات الكالسيوم في كافة المنظومات دوراً تنظيمياً أساسياً. وهناك آليتان عامتان لتنظيم التقلص العضلي: الآلية المعتمدة على الأكتين (في العضل الهيكلي والقلبي) والآلية المعتمدة على الميوسين (في العضل الأملس).

يحدث التنظيم المعتمد على الأكتين في العضل المخطط:

يحدث التنظيم العضلي المعتمد على الأكتين في العضل الهيكلي والقلبي للفقاريات، وكلاهما مخطط. وفي الآلية العامة المشروحة سابقاً (الشكل 58-6)، يمكن أن يكون الأتب (ATP) هو العامل المحدد المحتمل الوحيد في دورة التقلص العضلي. ويجري تثبيط الجملة العضلية الهيكلية خلال الراحة ويزول هذا التثبيط لتنشيط التقلص. ويكون مثبط العضل المخطط هو جملة التروبونين التي تكون مرتبطة بالتروبوميوسين والأكتين F في الخيط الرفيع (الشكل 58-3). ولا يوجد في العضل المخطط تحكم بالتقلص ما لم توجد جمل التروبوميوسين والتروبونين مع خيوط الأكتين والميوسين. ويتوضع التروبوميوسين ـ كما ذكرنا آنفاً ـ على طول تلم الأكتين F، وتكون المكونات الثلاثة للتروبونين (TpT و TpI و TpC) مرتبطة بالمعقد المُكون من الأكتين F والتروبوميوسين. ويمنع TpI ارتباط رأس الميوسين بموضع ارتباطه بالأكتين F إما بتغيير هيئة الأكتين F بواسطة جزيئات التروبوميوسين أو ـ بشكل أبسط ـ بدحرجة التروبوميوسين إلى موضع يحصر بشكل مباشر مواضع ارتباط رؤوس الميوسين على الأكتين F. وتؤدي أي من الطريقتين إلى الحيلولة دون تنشيط أتباز (ATPase) الميوسين التي يفعلها ارتباط رأس الميوسين بالأكتين F، وبذلك تحصر جملة TpI دورة التقلص عند الخطوة الثانية في (الشكل 58-6). وهذا هو المسؤول عن الحالة التثبيطية للعضل المخطط في طور الارتخاء.

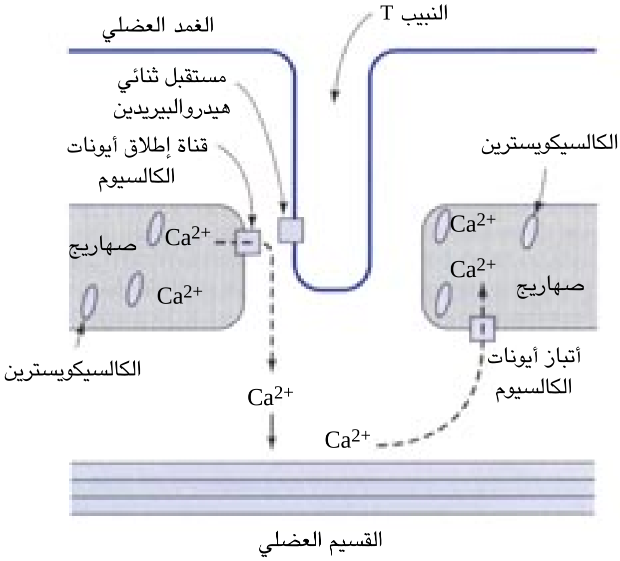
تنظم الشبكة الهيولية العضلية مستويات أيونات الكالسيوم داخل الخلايا في العضل الهيكلي:

يساوي تركيز أيونات الكالسيوم في الهيولى العضلية في حالة الراحة 10^{-8} – 10^{-7} مول/ل. وتبدأ حالة الراحة عندما تضخ أيونات الكالسيوم إلى داخل الشبكة الهيولية العضلية، الأمر الذي تقوم به جملة نقل فاعلة تدعى أتباز أيونات الكالسيوم (Ca^{2+} ATPase) (الشكل 58-8). الشبكة العضلية الهيولية هي شبكة من الأكياس الغشائية الدقيقة ترتبط أيونات الكالسيوم داخلها ببروتين نوعي رابط لأيونات الكالسيوم يدعى الكالسيكويسترين (Calsequestrin) كما يرتبط بهذه الشبكة الهيولية العضلية الغشاء المستثار المحيط بالقسيم العضلي والمكون من القنوات T المستعرضة (جملة النبيبات T).

عندما يستثار الغمد العضلي بدفعة عصبية (Nerve impulse)، تنقل الإشارة إلى الجملة النبيبية T وتفتح قناة إطلاق أيونات الكالسيوم في الشبكة العضلية الهيولية المجاورة مطلقة أيونات الكالسيوم من هذه الشبكة إلى الهيولى العضلية. ويرتفع تركيز أيونات الكالسيوم بسرعة إلى 10^{-5} جزئ/ل. وتشغل مقرات ارتباط أيونات الكالسيوم الأربع على TpC في الخيط الرفيع بأيونات الكالسيوم بسرعة. ويتآثر المعقد TpC.4 Ca^{2+} مع TpI و TpT لتغيير تآثره مع التروبوميوسين. ونتيجة لذلك، يتحرك التروبوميوسين بعيداً أو يغير هيئة الأكتين F بحيث يستطيع المعقد المؤلف من رأس الميوسين والأدب (ADP) وجذر الفسفات (الشكل 58-6) أن يتآثر مع الأكتين F للبدء بدورة التقلص.

تعرف قنوات إطلاق أيونات الكالسيوم أيضاً باسم مستقبلات الريانودين (Ryanodine) ويرمز للأخيرة بالرمز RYR. وهناك شكلان متماثلان من هذه المستقبلات، RYR1 و RYR2. يوجد الشكل الأول في العضل الهيكلي بينما يوجد الثاني في عضل القلب وفي الدماغ. ويعد الريانودين (Ryanodine) قلوانياً نباتياً يرتبط بكل من RYR1 و RYR2 بشكل نوعي ويؤدي إلى تعديل نشاطهما. وتعد قناة إطلاق أيونات الكالسيوم رباعية قسيمات متجانسة حيث تتكون من 4 وحيدات بوزن 565 ك. دالتون. ويكون لها متواليات عابرة للغشاء عند نهايتها الكربوكسيلية، وربما تشكل هذه المتواليات قناة أيونات الكالسيوم. وتتبارز بقية البروتين نحو العصارة

الخلوية رابطة الشبكة الهيولية العضلية بالغشاء النبيبي المستعرض. وتكون القناة مـبـوبة باللجـائن (Ligand-gated) وأيونات الكالسـيـوم والأتب (ATP) والتي تعـمل بشكل متآزر في التجارب المختبرية مع أننا نجهل كيفية قيامها بعملها في داخل الكائن الحي. ويبين (الشكل 58-9) التسلسل المحتمل للأحداث التي تؤدي إلى فتح القناة. وتتوضع القناة قريباً جداً من مستقبل ثنائي هيدرو البيريدين (DHPR) في جهاز النبيبات المستعرضة (الشكل 58-8)، وهو قناة بطيئة لأيونات الكالسيوم من النمط K المبوب بالڤولطاج.



الشكل 58-8 : مخطط للعلاقات ضمن الغمد العضلي (الغشاء البلازمي) والنبيب T وصهريجين من الشبكة الهيولية العضلية للعضل الهيكلي (غير مدرج). يمتد النبيب T داخل الغمد العضلي وتنقل موجة زوال الاستقطاب التي تطلقها دفعة عصبية من الغمد العضلي نحو النبيب T، ثم ترحل إلى قناة إطلاق أيونات الكالسيوم (مستقبل الريانودين) ربما بالتآثر بينها وبين مستقبل ثنائي هيدرو البيريدين (قناة بطيئة لأيونات الكالسيوم مبوبة بالڤولطاج) الذي يظهر قريباً منها. ويؤدي إطلاق أيونات الكالسيوم من قناة إطلاق أيونات الكالسيوم إلى العصارة الخلوية إلى ابتداء التقلص ثم تضخ لاحقاً أيونات الكالسيوم نحو صهاريج الشبكة الهيولية العضلية بواسطة أتباز أيونات الكالسيوم (مضخة أيونات الكالسيوم) وتخزن هناك مرتبطة بالكالسيكويسترين جزئياً.

وقد أشارت التجارب في الزجاج (المختبر) ـ باستخدام تقنية الاستشراب على العمود بالألفة ـ إلى وجود امتداد بطول 37 حمضاً أمينياً في RYR1 يتآثر مع عروة نوعية واحدة من DHPR. ويحدث الارتخاء عندما:

1 – تنقص أيونات الكالسيوم الهيولية العضلية إلى ما دون 10^{-7} جزئي/ل بسبب احتجازها في الشبكة الهيولية العضلية بواسطة أتباز أيونات الكالسيوم.

2 – ويخسر المعقد $TpC . 4 Ca^{2+}$ ما فيه من أيونات الكالسيوم.

3 – ويثبط التروبونين بتآثره مع التروبوميوسين المزيد من التآثر بين رأس الميوسين والأكتين F.

4 – وبوجود الأتب (ATP)، ينفصل رأس الميوسين عن الأكتين F.

وهكذا، تتحكم أيونات الكالسيوم بالتقلص العضلي بواسطة آلية تفارغية يتوسطها كل من TpC و TpI و TpT والتروبوميوسين والأكتين F في العضل.

يؤدي النقص في تركيز الأتب (ATP) في الهيولى العضلية (بسبب الاستعمال المفرط خلال دورة التقلص والارتخاء أو بسبب نقص التشكل كما قد يحدث في الإقفار (Ischemia)) إلى تأثيرين رئيسيين:

1 – تتوقف أتباز أيونات الكالسيوم (مضخة أيونات الكالسيوم) في الشبكة الهيولية العضلية عن الحفاظ على التركيز المنخفض لأيونات الكالسيوم في الهيولى العضلية. وهكذا، يتعزز تآثر رؤوس الميوسين مع الأكتين F.

2 – ولا يمكن أن يحدث الانفصال المعتمد على الأتب (ATP) بين رؤوس الميوسين والأكتين F، وبذلك يظهر الصمل (التقفع). وتعد حالة الصمل (الصمل الموتي) التي تتلو الموت امتداداً لهذه الأحداث.

يكون التقلص العضلي بحالة توازن ديناميكي دقيق بين ارتباط رؤوس الميوسين مع الأكتين F وانفصالها عنه، ويخضع هذا لتنظيم دقيق بواسطة الجملة العصبية.

يلخص (الجدول 58-1) الأحداث الإجمالية في تقلص العضل الهيكلي وارتخائه.



الشكل 58-9 : التسلسل المحتمل للأحداث المؤدية إلى فتح قناة إطلاق أيونات الكالسيوم. وكما هو مشار إليه في النص، يبدو أن قناة أيونات الكالسيوم المبوبة بالڤولطاج وقناة إطلاق أيونات الكالسيوم تتآثران بعضهما مع بعض في المختبر بواسطة مناطق نوعية في سلاسلهما عديدة الببتيد (DHPR مستقبل ثنائي هيدرو البيريدين، RYR1، مستقبل الريانودين 1).

تتسبب طفرات الجين المرمز لقناة إطلاق أيونات الكالسيوم في فرط الحرارة الخبيث لدى الإنسان:

يبدي بعض المرضى المستعدون وراثياً تفاعلاً شديداً عند التعرض لبعض المخدرات (كالهالوتان) والمرخيات العضلية الهيكلية المزيلة للاستقطاب (كسكسينيل الكولين). تدعى هذه الحالة «فرط الحرارة الخبيث» وتتكون بشكل رئيسي من صمل العضلات الهيكلية وفرط الأيض والحمى الشديدة. ويعد التركيز المرتفع لأيونات الكالسيوم في العصارة الخلوية للعضل الهيكلي عاملاً رئيسياً في سببيات هذا التفاعل الذي إذا لم يكتشف ويعالج فوراً، يمكن أن يموت المريض بسبب الرجفان البطيني أو يبقى على قيد الحياة ليعاني من مضاعفات خطيرة أخرى. وتقوم المعالجة المناسبة على إيقاف المخدر وإعطاء دواء الدنترولين (Dantrolene) وريدياً.

وعقار الدنترولين هو مُرخ عضلي هيكلي مشتق من الهيدانتوين يعمل على تثبيط إطلاق أيونات الكالسيوم من الشبكة الهيولية العضلية إلى العصارة الخلوية، وبذلك يحول دون زيادة أيونات كالسيوم العصارة الخلوية الموجودة في فرط الحرارة الخبيث.

كما يحدث فرط الحرارة الخبيث في الخنازير. وتستجيب الحيوانات المستعدة والمتماثلة الزيجوت بالنسبة إلى فرط الحرارة الخبيث للكروب بتفاعل مميت (متلازمة الكَرْب الخنزيري) شبيه لما يحدث لدى الإنسان. وإذا حدث التفاعل قبل الذبح يؤثر في جودة اللحم تأثيراً سلبياً مما يؤدي إلى منتج منخفض الجودة. ويمكن أن يقود كلا التأثيرين إلى أضرار مادية هامة في مجال الصناعة المعتمدة على لحوم الخنازير.

مراحل التقلص:

1 – انفراغ العصبون الحركي.

2 – إطلاق الناقل (الأسيتيل كولين) عند اللويحة المحركة الانتهائية.

3 – ارتباط الأسيتيل كولين بمستقبلات الأسيتيل كولين النيكوتينية.

4 – زيادة توصيل أيونات الصوديوم والبوتاسيوم في غشاء اللويحة الانتهائية.

5 – تولد كمون اللويحة الانتهائية.

6 – تولد كمون الفعل في الألياف العضلية.

7 – انتشار زوال الاستقطاب إلى الداخل على طول النبيبات T.

8 – إطلاق أيونات الكالسيوم من الصهاريج الانتهائية للشكبة الهيولية العضلية وانتشارها إلى الخيوط الثخينة والرفيعة.

9 – ارتباط أيونات الكالسيوم بالتروبونين C، وكشف مواضع ارتباط الميوسين في الأكتين.

10 تشكيل روابط تصالبية بين الأكتين والميوسين وانزلاق الخيوط الرفيعة على الثخينة وحدوث التقاصر.

مراحل الارتخاء:

1 – ضخ أيونات الكالسيوم إلى داخل الشبكة الهيولية العضلية.

2 – إطلاق أيونات الكالسيوم من التروبونين.

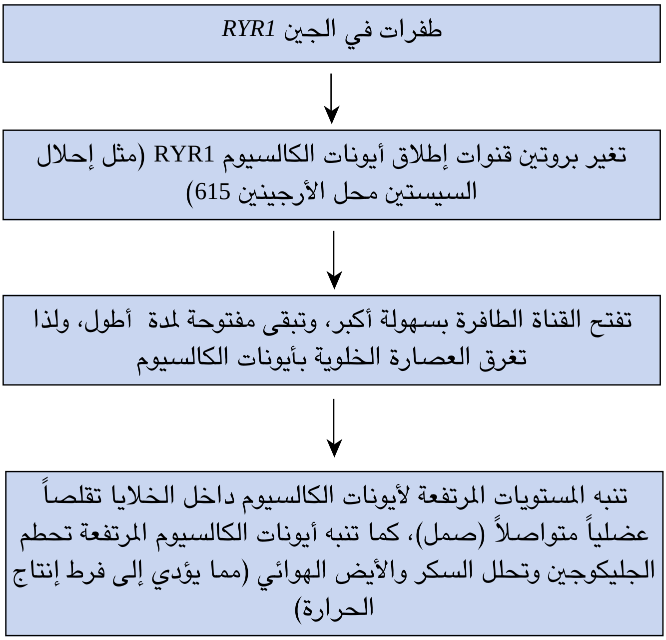
3 – توقف التآثر بين الأكتين والميوسين.

الجدول 58-1: تتابع أحداث تقلص العضل الهيكلي وارتخائه.

لقد أوحى كشف المستوى المرتفع لأيونات الكالسيوم في العصارة الخلوية العضلية المترافق مع فرط الحرارة الخبيث بأن هذه الحالة قد تكون ناجمة عن شذوذات أتباز أيونات الكالسيوم أو شذوذات في قناة إطلاق أيونات الكالسيوم. ولم تُكتَشَفْ شذوذات في الأولى لكن تحديد تسلسل جزيئات الدنا المتمم (cDNAs) لجين البروتين الثاني أثبت صحة الافتراض الثاني، لاسيما في الخنازير. كما أبدت كافة أشكال الدنا المتمم (cDNAs) المأخوذة من الخنازير المصابة بفرط الحرارة الخبيث والمفحوصة جيداً وجود استبدال للأساس T بالأساس C في الموقع 1843 مما يؤدي إلى استبدال الأرجينين 615 في بروتين قناة إطلاق أيونات الكالسيوم بالسيستين. وتؤثر هذه الطفرة في وظيفة القناة التي يصبح فتحها أسهل وذا مدة أطول نتيجة لهذه الطفرة، ومحصلة ذلك هي تحرك كبير لأيونات الكالسيوم إلى العصارة الخلوية مما يؤدي في نهاية الأمر إلى تقلص عضلي متواصل.

تكون الصورة أكثر تعقيداً في الإنسان، لأن فرط الحرارة الخبيث يبدي تغايراً وراثياً، ففي أفراد عدد من الأسر التي تعاني من فرط الحرارة الخبيث لم يظهر وجود علاقة وراثية مع الجين RYR1. وقد وجد أن بعض الأشخاص المستعدين لفرط الحرارة الخبيث يبدون الطفرة نفسها الموجودة في الخنازير في حين يبدي آخرون ضروباً مختلفة من الطفرات النقطية عند مواضع مختلفة في جين RYR1. وكما وجد أن بعض الأسر المصابة بفرط ضغط الدم الخبيث لديهم طفرات تؤثر في DHPR. ويلخص (الشكل 58-10) التتابع المحتمل للأحداث في فرط الحرارة الخبيث. وقد يكون مما تعد به هذا الموجودات بشكل رئيسي، بعد كشف المزيد من الطفرات، هو إمكانية تحري (تقصي) (Screen) الأفراد الذين هم في خطر من الإصابة بفرط الحرارة الخبيث خلال التخدير، وذلك باستعمال مسابير الدنا (DNA)المناسبة. فاختبارات التحري المختبرية الراهنة (مثل اختبار الكافيين ـ الهالوتان) غير معول عليها نسبياً. ويمكننا التحري بعدئذ من إعطاء الأفراد المصابين مخدرات بديلة لا تشكل خطراً على حياتهم. وينبغي أن يكون من المحتمل أيضاً، حسب الرغبة، التخلص من فرط الحرارة الخبيث في جمهرات الخنازير باستعمال ممارسات الاستيلاد (Breeding) المناسبة.

هناك حــالـة أخــرى تنجم عن طفــرات فـي الجين *RYR1* هي داء اللب المركــزي (Central core disease) ويمثل هـذا الداء اعـتـلالاً عـضـليـاً نـادراً يتظاهـر في فـتـرة الرضـاعـة بنقص التـوتر وضـعـف الـعـضـل الداني. ويبـدي المجـهـر الإلكتروني غـيـاب المتقدرات في مركز الكثير من الألياف العضلية من النمط I (انظر لاحقاً). ويبدو أن أذية المتقدرات المُحَرَّضة بالمستويات المرتفعة لأيونات الكالسيوم داخل الخلية، نتيجة لخلل وظيفة RYR1، هي المسؤولة عن الموجودات المورفولوجية.



الشكل 58-10 : مخطط مبسط لسبب فرط الحرارة الخبيث (MIM 145600). لقد كشفت 17 طفرة نقطية مختلفة على الأقل في جين *RYR1* بعضها يترافق بداء لب العضلات المركزي (MIM 117000) ويقدر أن 50 ٪ على الأقل من العائلات التي لديها أفراد مصابون بفرط الحرارة الخبيث يكون ذلك مرتبطاً بالجين *RYR1*. كما اكتشف بعض الأفراد الذين لديهم طفرات في الجين المرمز لـ DHPR، ومن المحتمل أن توجد أيضاً طفرات في جينات أخرى خاصة ببروتينات تساهم في بعض أوجه الأيض العضلي.

التيتين هو أكبر البروتينات المعروفة ويلعب ـ مع بروتينات مساعدة أخرى ـ دوراً هاماً في بنية ووظيفة العضل:

تلعب عدد من البروتينات الإضافية أدواراً مختلفة في بنية العضل ووظيفته (الجدول 58-2) ويشكل التيتين (Titin) جملة خيوط ثالثة، ربما تسمح للعضل بالعودة إلى شكله السابق بعد تمدده. وهو يمتد من الخط Z إلى الخط M، ويتكون من خيط مفرد يبلغ أكثر من 1 مم طولاً. ويتداخل جزء منه مع الشريط A (حيث يتداخل الأكتين والميوسين) وجزء آخر مع الشريط I (الأكتين بشكل رئيسي). ويعد التيتين أكبر البروتينات المعروفة، ويتألف شكله المماثل في قلب الإنسان من 26,926 حمضاً أمينياً بكتلة جزيئية قدرها 2993 ك. دالتون. وتتكون أكثر من 90 ٪ من كتلته من بنية تكرارية مكونة من 244 نسخة من تكرارات طولها 100 ثمالة. وتتألف هذه التكرارات من 112 حقلاً شبيهاً بالجلوبولين المناعي و 132 حقلاً شبيهاً بالفيبرونكتين 3 (شبيهاً بـ FN – 3). ويبدو أن التيتين يساهم في تجميع العضل، حيث يعمل كمرصاف لإقحام بروتينات إضافية أخرى في الشريط A. ويمكن أن تساعد فسفتة ثمالات معينة من السيرين متوضعة عند النهايات المتعاكسة من التيتين على التحكم بغرزه في موضعه الصحيح خلال تكون العضل. كما يساهم التيتين أيضاً في تنظيم التوتر خلال الراحة. وتحتوي المنطقة المركزية على التكرارات المسماة اصطلاحاً PEVK (البرولين، الجلوتامات، الفالين، الليزين) وعلى حقول الجلوبولين المناعي الترادفية. ويمكن أن تعمل هذه بالتوازي (كنابضين في سلسلة).

ومما يدعم دور المنطقة PEVK في تحديد الارتخاء أن طولها في العضل القلبي المتيبس يقيس 163 حمضاً أمينياً في حين يقيس في العضل الهيكلي الأكثر مرونة نحو 2000 حمض أميني. ويمكن أن تتولد الأشكال المماثلة (Isoforms) من التيتين بالتضفير التفريقي، وقد تفسر هذه الأشكال المختلفة في أطوال مناطق التمدد تنوع طول القسيمات العضلية في عضلات الفقاريات المخططة، وكذلك الفوارق في التوتر خلال الراحة.

البروتين	الموضع	ملاحظات عن الوظيفة
التيتين (Titin)	يصل من الخط Z إلى الخط M	أكبر بروتين في الجسم له دور هام في ارتخاء العضل
النيبولين (Nebulin)	من الخط Z على طول خيوط الأكتين	يمكن أن ينظم تجميع خيوط الأكتين وطولها
الأكتينين ألفا (α-Actinin)	يرسي الأكتين إلى الخطوط Z	يثبت خيوط الأكتين
الدسمين (Desmin)	يتوضع على طول خيوط الأكتين في إحدى الجهتين	يرتبط بالغشاء البلازمي (الغمد البلازمي)
الديستروفين (Dystrophin)	مرتبط بالغمد البلازمي	يكون معوزاً في الحثل العضلي من نمط دوشين يمكن أن تؤدي طفرات جينه إلى اعتلال العضل القلبي التوسعي أيضاً
الكالسينيورين (Calcieneurin)	العصارة الخلوية	هو فسفاتاز بروتيني مُنَظَّم بالكالمُودُولين يمكن أن يلعب أدواراً هامة في ضخامة القلب وفي تنظيم مقادير النفضات العضلية البطيئة والسريعة
البروتين C الرابط للميوسين	يكون مرتبأ بشكل مستعرض في الأشرطة A من القسيم العضلي	يربط الميوسين بالتيتين يلعب دوراً في الحفاظ على السلامة البنيوية للقسيم العضلي

الجدول 2-58: بعض البروتينات العضلية الهامة الأخرى.

النيبـولين (Nebulin) بروتين عمـلاق آخـر يمتـد من الخط Z وعلى طول خـيط الأكتين، وربما يتحكم بطول الخيوط الرفيعة. وهو يتكون بشكل رئيسي من وحدات تكرارية مؤلفة من 35 حمضاً أمينياً تشكل حقولاً رابطة للأكتين. ويلعب الأكتينين ـ ألفـادوراً هامـاً في العـضل بإرسـاء الأكتين إلى الخيـوط Z ـ (الأقراص Z). وهناك بروتين إضـافي هـام آخـر هو الدسمين (Desmin)، وهو خيط متوسط (انظر لاحقاً) ترتبط خيوطه بالليـيفات العـضلية جنباً إلى جنب لتسـاهم في ارتبـاطها بالسطح الخلوي. كما يسـاهم الديستروفين (Dystrophin) في الارتباط مع الغمد البلازمي، وتؤدي طفرات جينه إلى الحثل العضلي من نمط دوشين (الحالة رقم 6 من الفصل 65)، كـمـا تتـهم هذه الطفـرات في إحـداث بعض حـالات اعتـلال العـضل القلبي التوسعي (انظر لاحقاً).

الكالسينيورين (Calcineurin) هو بروتين يتوضـع في العضل، ويستحق الاهتمام. وهو فسـفـاتاز بروتيني مُنَظَّم بالكالمُودُولين. ولقد اقـترحت الدراسـات أنه قـد يكون مكوناً هاماً في آليات التحويل أو التبديل التي تنشط الجينات المساهمة في ضخامة القلب وفي تنظيم كميات ألياف النفضات البطيئة (انظر لاحقاً) في العضل الهيكلي.

يشبه العضل القلبي العضل الهيكلي في عدة نواح:

تماثل الصورة العامة للتقلص العضلي في القلب تلك الخاصة بالعضل الهيكلي. والعضل القلبي، كالعضل الهيكلي، مخطط ويسـتخدم جملة الأكتين ـ ميوسين ـ تروبومـيوسين ـ تروبونين الموصوفة آنفاً. لكن العـضل القلبي، وخـلافـاً للـعـضل الهيكلي، يبدي نظمية داخلية المنشأ (ذاتية)، وتتواصل خلاياه بعضـها مع بعض بسبب طبيعته المخلوية (Syncytial)، وتكون جملة النبيبات T أكثر تطوراً في العضل القلبي في حين تكون الشبكة الهيولية العضلية أقل امتـداداً، وبذلك يكون إمـداد أيونات الكالسيوم من داخل الخلايا من أجل التقلص أقل.

ولذلك يعتمد تقلص العضل القلبي على أيونات الكالسيوم من خـارج الخـلايا، فإذا حرم العضل القلبي المعزول من أيونات الكالسيوم يتوقف عن الضرب خلال دقيقة واحدة تقريباً، في حين يمكن أن يستمر العضل الهيكلي بالتقلص من دون

مصدر خارج خلوي لأيونات الكالسيوم. ويلعب الأمب الحلقي (cAMP) دوراً أكثر وضوحاً في العضل القلبي منه في العضل الهيكلي فهو يعدل مستويات أيونات الكالسيوم داخل الخلايا عبر تنشيط إنزيمات كيناز البروتين التي تقوم بفسفتة بروتينات نقل مختلفة في الغمد العضلي والشبكة الهيولية العضلية والمعقد المُنَظِّم تروبونين ـ تروبوميوسين أيضاً مما يؤثر في مستويات أيونات الكالسيوم داخل الخلية أو في الاستجابة لها. وهناك ارتباط بين فسفتة TpI وزيادة تقلص العضل القلبي المحرض بالكاتيكولامينات. وقد يكون هذا مسؤولاً عن التأثيرات في تقلص العضل القلبي (Inotropic) (زيادة القلوصية) للمركبات الأدرينية بيتا في القلب. ويلخص (الجدول 58-3) بعض الفوارق بين العضل الهيكلي والقلبي والأملس.

تدخل أيونات الكالسيوم الخلايا العضلية بواسطة قنواتها وتخرج منها بواسطة مبادل أيونات الصوديوم والكالسيوم وأتباز أيونات الكالسيوم:

كما ذكرنا آنفاً، تلعب أيونات الكالسيوم خارج الخلايا دوراً هاماً في تقلص العضل القلبي، ولكن ليس الهيكلي، وهذا يعني أن أيونات الكالسيوم تدخل الخلايا العضلية وتغادرها بطريقة منظمة. وسندرس ـ وبإيجاز ـ ثلاثة بروتينات عابرة للغشاء تساهم في هذه العملية.

1 – قنوات أيونات الكالسيوم (Ca^{++} channels) : تدخل أيونات الكالسيوم الخلايا العضلية بواسطة هذه القنوات التي تسمح بدخول أيونات الكالسيوم فقط. وبوابة الدخول الأساسية هي قناة أيونات الكالسيوم من النمط L (تيار طويل المدة، مواصلة Conductance كبيرة) أو قناة أيونات الكالسيوم البطيئة المبوبة بالڤولطاج فتفتح خلال زوال الاستقطاب المحرض بانتشار كمون الفعل القلبي وتغلق عندما ينخفض كمون الفعل. وتكون هذه القنوات مضاهئة لمستقبلات ثنائي هيدرو البيريدين في العضل الهيكلي (الشكل 58-8). ويجري تنظيم قنوات أيونات الكالسيوم البطيئة بإنزيمات كيناز البروتين المعتمدة على الأمب الحلقي (cAMP) (منبهة) وإنزيمات كيناز البروتين المعتمدة على الجمب الحلقي (cGMP) (مثبطة)، وهي تحصر بما يدعى محصرات (Blockers) قنوات الكالسيوم كالڤيراباميل.

العضل الهيكلي	العضل القلبي	العضل الأملس
1 – مخطط	1 – مخطط	1 – غير مخطط
2 – غياب المَخْلَى	2 – مخلوي	2 – مخلوي
3 – نبيبات T صغيرة	3 – نبيبات T كبيرة	3 – نبيبات T رديمية بوجه عام
4 – شبكة هيولية عضلية جيدة التطور ومضخة أيونات الكالسيوم تعمل بسرعة	4 – توجد شبكة هيولية عضلية، ومضخة أيونات الكالسيوم تعمل بسرعة نسبياً.	4 – غالباً ما تكون الشبكة الهيولية العضلية رديمية (Rudimentary)، وتعمل مضخة أيونات الكالسيوم ببطء.
5 – يفتقر الغمد البلازمي للكثير من مستقبلات الهرمونات	5 – يحتوي الغمد البلازمي على ضروب مختلفة من المستقبلات (مثل الأدرينية ألفا وبيتا)	5 – يحتوي الغمد البلازمي على ضروب مختلفة من المستقبلات (مثل الأدرينية ألفا وبيتا)
6 – تبتدئ الدفعة العصبية التقلص	6 – له نظمية داخلية	6 – يبتدئ التقلص بالدفعات العصبية والهرمونات ... إلخ.
7 – أيونات الكالسيوم في السائل خارج الخلايا غير هامة للتقلص	7 – أيونات الكالسيوم في السائل خارج الخلايا هامة للتقلص	7 – أيونات الكالسيوم في السائل خارج الخلايا هامة للتقلص
8 – توجد جملة التروبونين	8 – توجد جملة التروبونين	8 – يفتقر لجملة التروبونين، ويستخدم رأس الميوسين المنظم
9 – لا يساهم الكالديسمون (Caldesmon)	9 – لا يساهم الكالديسمون	9 – الكالديسمون بروتين تنظيمي هام
10 – دورة سريعة جداً للجسور التصالبية	10 دورة سريعة نسبياً للجسور التصالبية	10 – دورة بطيئة للجسور التصالبيّة تسمح بتقلص بطيء ومديد وباستخدام أقل للأتب (ATP)

الجدول 3-58: بعض الفروق بين العضل الهيكلي والقلبي والأملس.

كما توجد قنوات أيونات الكالسيوم السريعة (أو T، أي مؤقتة (Transient)) في الغمد البلازمي لكن بأعداد أقل بكثير من الأولى، وقد تساهم في الطور الباكر من زيادة أيونات الكالسيوم في البلازما العضلية.

تؤثر الزيادة الناتجة لأيونات الكالسيوم في البلازما العضلية على قناة إطلاق أيونات الكالسيوم في الشبكة الهيولية العضلية لفتحها، وهذا ما يدعى إطلاق أيونات الكالسيوم المحرض بأيونات الكالسيوم (CICR) ويقدر أن نحو 10٪ من أيونات الكالسيوم المساهمة في التقلص تدخل العصارة الخلوية من السائل خارج الخلايا، وأن 90 ٪ منها يأتي من الشبكة الهيولية العضلية. ولكن النسبة 10 ٪ هامة أيضاً كما هو معدل زيادة أيونات الكالسيوم في البلازما العضلية، ويساهم الدخول بواسطة قنوات أيونات الكالسيوم في هذه العملية بشكل واضح.

2 – مبادل أيونات الكالسيوم والصوديوم (Ca^{++} - Na^{+} exchanger) : يعد هذا المبادل الطريق الأساسي لخروج أيونات الكالسيوم من الخلايا العضلية، ففي الخلايا العضلية المستريحة يساهم في الحفاظ على مستوى منخفض من أيونات الكالسيوم الحرة داخل الخلايا، وذلك بمبادلة أيون كالسيوم واحد مقابل ثلاثة أيونات صوديوم. وتأتي الطاقة اللازمة لخروج أيونات الكالسيوم من الخلية من حركة أيونات الصوديوم إلى داخل الخلية من البلازما. ويساهم هذا المبادل في الارتخاء لكنه قد يسير في الاتجاه المعاكس خلال الاستثارة. وبسبب وجود هذا المبادل فإن كل ما يرفع مستوى أيونات الصوديوم داخل الخلايا ($Na^{+}i$) سيؤدي إلى ارتفاع $Ca^{2+}{}_{i}$ بشكل ثانوي مما يحدث تقلصاً أكثر قوة. ويدعى ذلك باسم التأثير الإيجابي في القلوصية. ومن الأمثلة عليه استخدام دواء الديجيتاليس (Digitalis) في معالجة قصور القلب حيث يثبط هذا الدواء أتباز أيونات البوتاسيوم والصوديوم في الغمد العضلي مما ينقص خروج أيونات الصوديوم ومن ثم يزيد $Na^{+}{}_{i}$ وهذا بدوره يؤدي إلى زيادة أيونات الكالسيوم بواسطة مبادل أيونات الكالسيوم والصوديوم. وتؤدي زيادة $Ca^{2+}{}_{i}$ إلى زيادة قوة التقلص القلبي التي تفيد في حالة قصور القلب.

النمط	ملاحظات
الخارجية المبوبة باللجائن	تفتح استجابة لجزيء نوعي خارج الخلية كالأسيتيل كولين.
داخلية مبوبة باللجائن	تفتح أو تغلق استجابة لجزيء نوعي داخل الخلية كالنوكليوتيدات الحلقية.
مبوبة بالڤولطاج	تفتح استجابة لتغير في كمون الغشاء (قنوات أيونات الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم في القلب)
مبوبة ميكانيكياً	تفتح استجابة لتغير في الضغط الميكانيكي.

الجدول 58-4: الأنماط الرئيسة لقنوات الأيونات في الخلايا.

تنجم اعتلالات العضل القلبي الموروثة عن اضطرابات أيض الطاقة القلبية أو شذوذ بروتينات العضل القلبي:

اعتلال العضل القلبي الموروث هو أي شذوذ بنيوي أو وظيفي في العضل القلبي البطيني بسبب وراثي. وهناك أنماط غير وراثية من اعتلال العضل القلبي لكننا لن نصفها هنا. وتقع أسباب اعتلالات العضل القلبي الموروثة (الجدول 58-6) في صفين عريضين:

(1) اضطرابات أيض الطاقة القلبية، لاسيما التي تدل على طفرات في الجينات المرمزة للإنزيمات أو البروتينات المساهمة في أكسدة الأحماض الدهنية (مصدر رئيسي لطاقة العضل القلبي) والفسفتة الأكسدية.

(2) الطفرات في الجينات المرمزة للبروتينات المساهمة في تقلص العضل القلبي أو المؤثرة فيه كالمَيوسين والتروبوميوسين والتروبونينات والبروتين C القلبي الرابط للميوسين. وتؤدي الطفرات في الجينات المرمزة لهذه البروتينات الأخيرة إلى اعتلال العضل القلبي الضخامي العائلي الذي سوف ندرسه هنا.

الاضطراب [1]	قناة الأيونات والأعضاء الرئيسية المصابة
داء لب العضلات المركزي (MIM 117000)	قناة إطلاق أيونات الكالسيوم (RYR1) العضل الهيكلي
التليف الكيسي (MIM 219700)	CFTR (قناة أيونات الكلوريد) الرئتان، البنكرياس
شلل فرط بوتاسيوم الدم الدوري (MIM 170500)	قناة الصوديوم العضل الهيكلي
شلل نقص بوتاسيوم الدم الدوري (MIM 114208)	قناة أيونات الكالسيوم البطيئة المبوبة بالڤولطاج (DHPR) العضل الهيكلي
فرط الحرارة الخبيث (MIM 180901)	قناة إطلاق أيونات الكالسيوم (RYR1) العضل الهيكلي
تأتر العضل الخلقي (تشنج العضل التوتري) (MIM 160800)	قناة الكلوريد العضل الهيكلي

الجدول 5-58: بعض الاضطرابات (الاعتلالات القنوية) الناجمة عن تطفر الجينات المرمزة للمقومات الببتيدية لقنوات الأيونات.

1 – تضم الاعتلالات القنوية الأخرى كلاً من متلازمة QT الطويلة (MIM 192500)، والألدوستيرونية الكاذبة (متلازمة ليدل Liddle، MIM 177200) ونقص سكر الدم الدائم بفرط الإنسولين عند الرضع (MIM 601820) والتحصي الكلوي الوراثي المقهور والمرتبط بالجنس من النمط الثاني في الرضع (متلازمة دينت Dent، MIM 300009) والتأتر العضلي المُعَمَّم المقهور (داء بيكر Becker، MIM 255700). ويدل مصطلح التأتر العضلي على أي اضطراب لا ترتخي فيه العضلات بعد التقلص.

البروتينات أو العمليات المتأثرة	السبب
دخول الكارنيتين إلى الخلايا والمتقدرات بعض إنزيمات أكسدة الأحماض الدهنية	الأخطاء الخلقية في أكسدة الأحماض الدهنية
البروتينات المرمزة بالجينات المتقدرية البروتينات المرمزة بالجينات النووية	اضطرابات الفسفتة الأكسدية المتقدرية
السلاسل الثقيلة للميوسين بيتا، التروبونين، التروبوميوسين، الديستروفين	شذوذات البروتينات القلوصية والبنيوية في العضل القلبي

الجدول 58-6: الأسباب الكيميائية الحيوية لاعتلالات العضل القلبي الموروثة 1.

1 – تعد الطفرات (مثل الطفرات النقطية أو عيوب الخبْن في بعض الحالات) في الجينات (النووية أو المتقدرية) المُرمِّزة لمختلف البروتينات أو الإنزيمات أو جزيئات الرنا (RNA) النقال هي الأسباب الرئيسة لاعتلالات العضل القلبي الموروثة . وتكون بعض الاعتلالات خفيفة، في حين يكون بعضها الآخر شديداً وقد يكون جزءاً من متلازمة تصيب الأنسجة الأخرى (مثل MEALS، انظر الفصل 64) .

تعد الطفرات في جين السلسلة الثقيلة للميوسين- بيتا القلبي إحدى أسباب اعتلال العضل القلبي الضخامي العائلي:

يعد اعتلال العضل القلبي الضخامي العائلي (Familial hypertrophic cardiomyopathy) أحد أكثر الأمراض القلبية الوراثية شيوعاً. ويبدي المصابون ضخامة في بطين واحد أو في البطينين غالباً ما تكون كبيرة وتبدأ باكراً في الحياة ولا ترتبط بأي سبب خارجي (فرط ضغط الدم مثلاً). وتنتقل معظم الحالات بطريقة كروموسومية جسدية سائدة، وتكون الحالات الباقية فُرادية (Sporadic). وما يزال السبب غامضاً حتى الوقت الحاضر.

ترجع بداية الفهم الجزيئي لاعتلال العضل القلبي الضخامي العائلي إلى عام 1989 عندما وجد أن هناك ارتباطاً وراثياً بين الاعتلال وتعدد أشكال (Polymorphism) على الذراع الطويل للكروموسوم 14 في عائلة مصابة بالمرض، وذلك باستعمال مجموعة من واصمات تعدد أشكال أطوال الشدف المتقطعة (RFLPs).

وقد بينت الأعمال السابقة وجود جينين يرمزان الأشكال الأسوية (Isoforms) ألفا وبيتا للسلاسل الثقيلة للميوسين القلبي متوضعين في ترادف قريب من موضع تعدد الأشكال، وهذا ما أشار إلى أنهما الجينان المتهمان. ويكون الشكل الأسوي ـ بيتا سائداً في العضل البطيني لدى البشر. وقد أظهرت الأعمال اللاحقة وجود طفرة مغلطة (استبدال حمض أميني واحد بآخر) في جين السلسلة الثقيلة للميوسين ـ بيتا ربما تكون مسؤولة عن اعتلال العضل القلبي الضخامي العائلي في الأسرة المدروسة.

وقد بينت دراسات إضافية عدداً من الطفرات المغلطة الأخرى في الجين تشمل كلها ثمالات مصانة بدرجة عالية. وقد أظهر بعض الأفراد طفرات أخرى مثل تشكيل جين هجين للسلسلة الثقيلة للميوسين ألفا وبيتا. ويمكن أن يبدي المصابون بهذا المرض تبايناً كبيراً في الصورة السريرية مما يدل جزئياً على تغاير وراثي، أي قد تكون الطفرات في عدد من الجينات الأخرى سبباً لاعتلال العضل القلبي الضخامي العائلي أيضاً. كما قد تؤثر الطفرات عند مواضع مختلفة من جين السلسلة الثقيلة للميوسين ـ بيتا في وظيفة البروتين بدرجة كبيرة أو صغيرة. وتتجمع الطفرات المغلطة في مناطق الرأس والمناطق الرأسية العصوية للسلسلة الثقيلة من الميوسين. وترى إحدى الفرضيات أن عديدات الببتيد الطافرة (عديدات الببتيد السامة) تؤدي إلى تشكيل لييفات عضلية شاذة تقود في نهاية المطاف إلى ضخامة معاوضة. ومن اللافت للنظر ألا تؤثر أي من الطفرات في الحقول الوظيفية الرئيسية الثلاثة للبروتين (نشاط الأتباز وارتباط الأكتين وارتباط السلاسل الخفيفة للميوسين)، ربما لأنها تكون مميتة. وتغير بعض الطفرات شحنة الحمض الأميني (مثل استبدال الجلوتامين بالأرجنين) فتؤثر في هيئة البروتين بشكل أوضح من التأثير في وظيفته. ويبدي المصابون بهذه الطفرات انخفاضاً هاماً في متوسط العمر بالمقارنة مع المرضى الذين لا تؤدي عندهم الطفرات إلى تغير في الشحنة. وهكذا، فإن تعيين الطفرات الدقيقة المساهمة في إحداث اعتلال العضل القلبي الضخامي العائلي يمنحها قيمة إنذارية هامة إذا قمنا بالاستعمال المناسب للتفاعل البوليميرازي التسلسلي على الدنا (DNA) المجيني المأخوذ من عينة واحدة من الخلايا اللمفاوية الدموية.

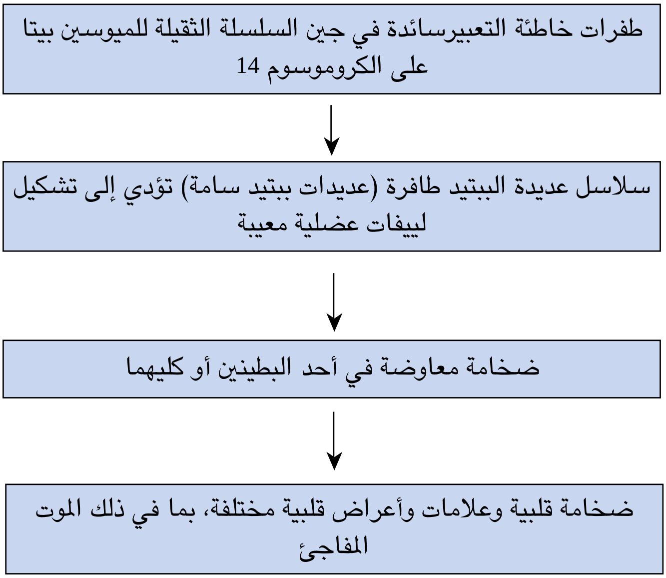
ويبين (الشكل 58-11) مخططاً مبسطاً للأحداث المؤدية إلى اعتلال العضل القلبي الضخامي العائلي.

هناك نمط آخر من اعتلال العضل القلبي هو اعتلال العضل القلبي التوسعي (dilated) الذي اتهمت بإحداثه طفرات في الجينات المُرمزة لكل من الديستروفين والبروتين العضلي LIM (يدعى كذلك لأنه تبين أنه يحتوي على حقل غني بالسيستين اكتشف بشكل رئيسي في 3 بروتينات: Lin-II و Is1-1 و Mec-3) والبروتين الرابط لعنصر الاستجابة الحلقية (CREB). ويساعد البروتينان الأولان على انتظام الجهاز القلوص للخلايا العضلية القلبية، ويساهم CREB في تنظيم عدد الجينات في هذه الخلايا. ولم توضح الأبحاث الراهنة الأسباب الجزئية لاعتلالات العضل القلبي فحسب وإنما أماطت اللثام عن الطفرات المسببة للاضطرابات التطورية القلبية (مثل العيوب الحاجزية) واللانظميات (الناجمة عن الطفرات التي تصيب قنوات الأيونات).

تنظم أيونات الكالسيوم تقلص العضل الأملس أيضاً

في حين تحتوي كافة العضلات على الأكتين والميوسين والتروبوميوسين، توجد جملة التروبونين في العضلات المخططة للفقاريات حصراً. وهكذا، يجب أن تختلف الآليات التي تنظم التقلص في الجمل القلوصة المتنوعة.

تتصف العضلات الملساء ببنى جزيئية مماثلة لتلك التي في العضل المخطط لكن القسيمات العضلية لا تتراصف بطريقة تولد المظهر المخطط. وتحتوي العضلات الملساء على الأكتينين ـ ألفا وجزيئات التروبوميوسين وتغيب عنها جملة التروبونين. وتختلف السلاسل الخفيفة في جزيئات ميوسين العضل الأملس عن نظيراتها في ميوسين العضل المخطط. ويكون تنظيم تقلص العضل الأملس معتمداً على الميوسين خلافاً لحالة العضل المخطط المنظم بالاعتماد على الأكتين. ولكن، يجري تنظيم تقلص العضل الأملس بأيونات الكالسيوم مثله مثل العضل المخطط.



الشكل 58-11 : مخطط مبسط لسبب اعتلال العضل القلبي الضخامي العائلي (MIM 192600)الناجم عن طفرات في الجين المرمز للسلسلة الثقيلة للمَيوسين ـ بيتا. كما يمكن أن تؤدي الطفرات في الجينات المرمزة للبروتينات الأخرى، مثل التروبونينات والتروبومَيوسين والبروتين القلبي C الرابط للمَيوسين، إلى هذه الحالة أيضاً. وتساهم الطفرات في الجينات المرمزة لبروتينات أخرى كالديستروفين في إحداث اعتلال العضل القلبي التوسعي.

تبتدئ فسفتة السلاسل الخفيفة ـ p للميوسين تقلص العضل الأملس:

عندما يرتبط ميوسين العضل الأملس بالأكتين F بغياب البروتينات العضلية الأخرى (كالتروبوميوسين) لا تكون هناك فعالية قابلة للكشف للأتباز. ويكون غياب هذا النشاط مختلفاً تماماً عن الحالة الموصوفة بالنسبة إلى ميوسين العضل المخطط والأكتين F، والذي يبدي نشاطاً غزيراً للأتباز. ويحتوي ميوسين العضل الأملس على سلسلة خفيفة (السلسلة الخفيفة – p) تمنع ارتباط رأس الميوسين بالأكتين F. وينبغي فسفتة هذه السلسلة الخفيفة قبل أن تسمح للأكتين F بتنشيط أتباز

المَيوسين ثم يؤدي نشاط الأتباز إلى حلمهة الأتب (ATP) بمقدار يقل عشرة أضعاف عن النشاط المرافق في العضل الهيكلي. ويمكن أن تشكل الفسفات على السلاسل الخفيفة للميوسين خلابة (Chelate) مع أيونات الكالسيوم المرتبطة بالمُعقّد تروبوميوسين ـ TpC ـ أكتين مما يؤدي إلى زيادة معدل تشكيل الروابط التصالبيّة بين رؤوس الميوسين والأكتين. وتؤدي فسفتة السلاسل الخفيفة ـ p إلى إطلاق دورة تقلص العضل الأملس بالاتصال والانفصال.

تنشط كيناز السلاسل الخفيفة للميوسين بواسطة الكالمودولين المرتبط بأربع أيونات كالسيوم ثم تفسفت السلاسل الخفيفة – P:

تحتوي الهيولي العضلية في العضل الأملس على كيناز السلاسل الخفيفة للميوسين، وهي كيناز معتمدة على الكالسيوم. ويتطلب تنشيط هذه الكيناز بأيونات الكالسيوم ارتباط الكالمودولين المرتبط بأربع أيونات كالسيوم بوحيدة الكيناز المعنية (الشكل 58-12). وتقوم كيناز السلاسل الخفيفة – p المنشطة بفسفتة هذه السلاسل لتفقد قدرتها على تثبيط التآثر بين الميوسين والأكتين F وتبدأ دورة التقلص.

يرتخي العضل الأملس عندما ينقص تركيز أيونات الكالسيوم دون 10^{-7} جزيئ/ل:

يحدث ارتخاء العضل الأملس عندما:

1 – ينقص تركيز أيونات الكالسيوم في الهيولى العضلية دون 10^{-7} جزيئ/ل وتفترق هذه الأيونات عن الكالمودولين الذي يفترق بدوره عن كيناز السلسلة الخفيفة للميوسين.

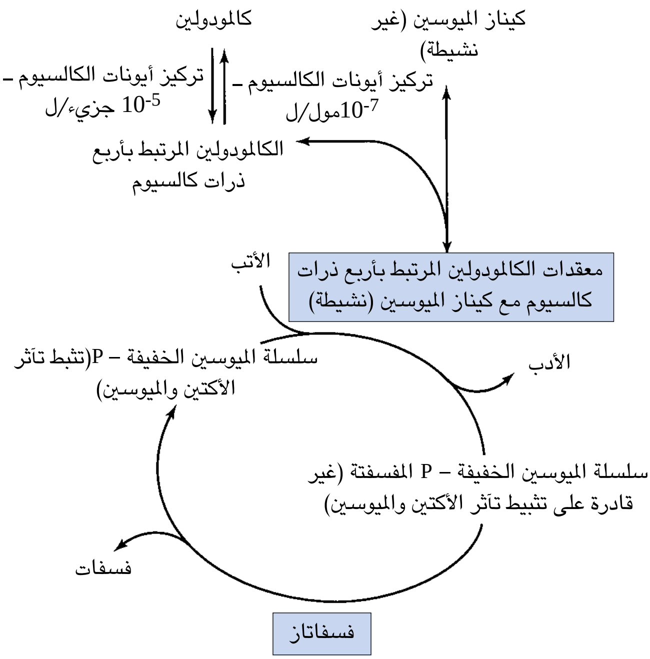
2 – هذا يقود إلى تعطيل الكيناز.

3 – ولا ترتبط جزيئات جديدة من الفسفات بالسلسلة الخفيفة – p، وتقوم فسفاتاز بروتين السلسلة الخفيفة التي تكون فعالة دائماً وغير معتمدة على الكالسيوم بنزع جذور الفسفات الموجودة من السلسلة الخفيفة –p.

4 – ثم تثبط السلسلة الخفيفة – p منزوعة الفسفات ارتباط رؤوس الميوسين بالأكتين F ونشاط الأتباز.

5 – وينفصل رأس الميوسين عن الأكتين F بوجود الأتب (ATP)، لكنه لا يستطيع أن يرتبط من جديد بسبب وجود السلسلة الخفيفة – p منزوعة الفسفات، فيحدث الارتخاء.

ويعرض (الجدول 58-7) التآثرات بين الأكتين والميوسين (تنشيط أتباز الميوسين) وتنظيمها مقارناً بين العضلات المخططة والملساء.



الشكل 58-12 : تنظيم تقلص العضل الأملس بأيونات الكالسيوم.

لا تتأثر كيناز السلسلة الخفيفة للميوسين أو تتنشط بالأمب الحلقي (cAMP) بشكل مباشر ولكن يمكن أن تفسفت كيناز البروتين المنشطة بالأمب الحلقي (cAMP) (الفصل 44) كيناز السلسلة الخفيفة للميوسين (وليس السلسلة الخفيفة – p نفسها). وتبدي كيناز السلسلة الخفيفة المفسفتة ألفة منخفضة تجاه الكالمودولين المرتبط بأربع أيونات كالسيوم، ومن ثم فهي أقل حساسية للتنشيط. ونتيجة لذلك، تنقص زيادة الأمب الحلقي (cAMP) استجابة العضل الأملس لزيادة معلومة في أيونات الكالسيوم الهيولية العضلية. ويمكن أن تفسر هذه الآلية الجزيئية التأثير المرخي الذي يمارسه التنبيه الأدريني ـ بيتا في العضل الأملس.

هناك بروتين آخر يبدو أنه يلعب دوراً معتمداً على أيونات الكالسيوم في تنظيم تقلص العضل الأملس، وهذا البروتين هو الكالديسمون (87 ك. دالتون) الموجود في كافة أشكال العضل الأملس وكذلك في الأنسجة غير العضلية. وهو يرتبط عند التراكيز المنخفضة لأيونات الكالسيوم بالتروبوميوسين والأكتين مما يمنع تآثر الأكتين مع الميوسين مبقياً العضل في حالة ارتخاء. أما عند التراكيز المرتفعة لأيونات الكالسيوم فيربط معقد الكالمودولين المرتبط بالكالسيوم الكالديسمون محرراً إياه من الأكتين الذي يصبح حراً في الارتباط مع الميوسين، ويمكن أن يحدث التقلص. كما يكون الكالديسمون عرضة للفسفتة ونزع الفسفات أيضاً، وعندما يفسفت يصبح غير قادر على ربط الأكتين الذي يبقى أيضاً حراً في التآثر مع الميوسين. وقد يساهم الكالديسمون في تنظيم بنية الجهاز القلوص في العضل الأملس. ولقد تمكنا من إثبات الكثير من تأثيراته في المختبر، لكن أهميته الفيزيولوجية ما تزال قيد الاستقصاء.

كما لاحظنا في (الجدول 58-3)، يسمح الدوران البطيء للجسور التصالبية بتقلص مديد للعضل الأملس (كما في الأحشاء والأوعية الدموية) مع استخدام أقل للأتب (ATP) مقارنة بالعضل المخطط. وتدعى قدرة العضل الأملس على الحفاظ على القوى عند سرعات منخفضة من التقلص باسم حالة اللاقفة (Latch State)، وهي الخاصية الرئيسية للعضل الأملس التي تخضع أسسها الجزيئية الدقيقة للدراسة حالياً.

	العضل المخطط	العضل الأملس (والخلايا غير العضلية)
بروتينات الخيوط العضلية	الأكتين الميوسين التروبوميوسين التروبونين (TpC,TpT,TpI)	الأكتين الميوسين [1] التروبوميوسين
التـآثر التلقـائي بين الأكـتين F والميـوسين فـقط (تنشـيط تلقـائي لأتباز الميوسين بالأكتين F)	موجود	غير موجود
مـثـبط التـآثر بين الأكـتين F والميـوسين (مـثبط تنشـيط الأتبـاز المعتمد على الأكتين F	جملة التروبونين (TpI)	السلسلة الخفيفية -p غير المفسفتة للميوسين
يتنشط التقلص بواسطة	أيونات الكالسيوم	أيونات الكالسيوم
التأثير المباشر لأيونات الكالسيوم	ترتبط أربع أيونات كـاليـوم بالتروبونين C	ترتبط أربع أيونات كـالسـيوم بالكالمودولين
تأثيرات أيونات الكالسيوم المرتبطة بالبروتين	يناهض المعقّد $TpC.4Ca^{2+}$ تثبيط TpI للتـآثر بين الأكـتين F والميوسين (يسمح بتنشيط الأتباز بالأكتين F)	ينشط معقّد الكالمودولين المرتبط بأربع أيونات كـالسـيوم كيناز السلسلة الخـفـيفـة للميـوسين التي تفسـفت السلسلة الخـفـيفـة ـ p للميـوسين فتغدو غير قادرة على تثبيط التآثر بين الأكـتين F والميـوسين (تسـمح بتنشيط الأتباز بالأكتين F)

الجدول 58-7 : التآثرات بين الأكتين والميوسين في العضل المخطط والعضل الأملس.

1– تكون السلاسل الخفيفة للميوسين مختلفة بين العضل المخطط والعضل الأملس.

يرخي أكسيد النتريك (NO) العضل الأملس للأوعية الدموية ويقوم بعدد من الوظائف البيولوجية الهامة:

يعد الأسيتيل كولين (Acetylcholine) موسعاً وعائياً يعمل من خلال إرخاء العضل الأملس في الأوعية الدموية. ولكنه لا يعمل مباشرة على العضل الأملس حيث لوحظ أن عزل الخلايا البطانية عن الخلايا العضلية الملساء المستبطنة لها يوقف تأثير الأسيتيل كولين كموسع للأوعية. وقد دلت هذه الظاهرة على أن الموسعات الوعائية (كالأسيتيل كولين) تتآثر أولاً مع الخلايا البطانية للأوعية الدموية الصغيرة بواسطة مستقبلاتها المقترنة مع دورة الفسفوإينوزيتيد (الفصل 44). يقود هذا التآثر إلى إطلاق أيونات الكالسيوم داخل الخلية من خلال فعل ثلاثي فسفات الإينوزيتول. وتؤدي زيادة أيونات الكالسيوم بدورها إلى إطلاق عامل مرخ مشتق من البطانة (EDRF) ينتشر إلى العضل الأملس المجاور ليتفاعل مع جزيء الهيم في مُحَلِّقَة الجوانيليل الذوابة وينشطها. يؤدي ذلك إلى زيادة لاحقة في المستويات داخل الخلوية للجمب الحلقي(cGMP) (الشكل 58-13). وينبه هذا بدوره أنشطة بعض كينازات البروتين المعتمدة على الجمب الحلقي (cGMP)، والتي ربما تفَسْفت بروتينات عضلية معينة مؤدية إلى الارتخاء، ولكن لم تتضح التفاصيل بعد.

يعمل الموسع الوعائي الإكليلي، النيتروجليسيرين، الذي يستخدم بشكل واسع في تفريج الذبحة الصدرية على زيادة إطلاق EDRF داخل الخلية، ومن ثم زيادة الجمب الحلقي(cGMP). وعلى غير المتوقع، وجد أن EDRFهو غاز أكسيد النتريك (NO) الذي يتشكل بفعل إنزيم سينثاز (مخَلِّقة) أكسيد النتريك، أحد إنزيمات العصارة الخلوية. وتتنشط الأشكال البطانية والعصبونية لمُخَلِّقة أكسيد النتريك بأيونات الكالسيوم (الجدول 58-8). ويكون الأرجينين هو الركيزة والسيترولين وأكسيد النتريك هما الناتجان:

$$\text{Arginine} \xrightarrow{\text{NOsynthase}} \text{Citrulline + NO}$$

تحفز سنتاز (مُخَلِّقة) أكسيد النتريك أكسدة خمسة إلكترونات لأحد النتروجينات الأميدينية في الأرجينين. ويبقى المتوسط هيدروكسي الأرجينين المياسر

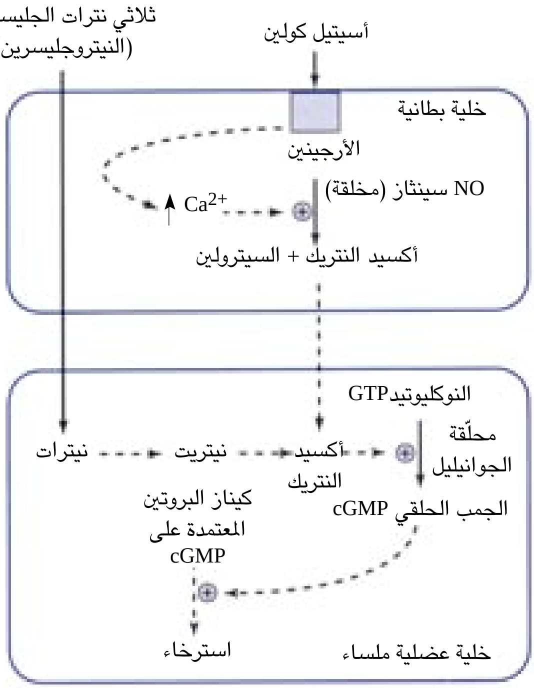
مرتبطاً بقوة مع الإنزيم. وتُعَد سنتاز أكسيد النتريك إنزيماً معقداً جداً يستخدم خمس تمائم عاملة مخزلدة (redox) هي: NADPH و FAD و FMN والهيم ورباعي هيدرو البيوبتيرين.

كما يمكن أن يتشكل أكسيد النتريك من النتريت (Nitrite) المشتق من موسعات الأوعية (كثلاثي نترات الجليسيريل) خلال أيضها.

يتصف أكسيد النتريك بعمر نصفي قصير جداً في الأنسجة (نحو 3-4 ثوان) لأنه يتفاعل مع الأكسيجين وفوق الأكسيد (Superoxide). ويكون ناتج التفاعل مع الأخير هو البيروكسي نتريت (ONOO-) (Peroxynitrite) الذي يتفكك ليشكل جذر OH* شديد التفاعلية. ويتثبط أكسيد النتريك بالهيموجلوبين والبروتينات الهيمية الأخرى التي تربطه بقوة. وتتوفر حالياً المثبطات الكيميائية لسنتاز أكسيد النتريك، وهي تستطيع إنقاص تشكيل النتريك بشكل واضح. ويؤدي تطبيق مثل هذه المثبطات على الحيوانات والإنسان إلى تضيق وعائي وزيادة ملحوظة في ضغط الدم، مما يشير إلى أن أكسيد النتريك ذو أهمية رئيسية في الحفاظ على ضغط الدم في الكائن الحي. هناك تأثير قلبي وعائي هام آخر لأكسيد النتريك، فهو يعمل كمثبط لتكدس الصفيحات عن طريق زيادة تخليق الجمب الحلقي (cGMP) (الفصل 59).

دخل أكسيد النتريك دائرة الاهتمام التجريبي منذ اكتشاف دوره كموسع وعائي. وقد أجريت تجارب متنوعة لمعرفة مختلف أدواره الفيزيولوجية التي تشمل تقريباً كل أنسجة الجسم (الجدول 58-9). وقد أمكن كشف ثلاثة نظائر رئيسية لسنتاز أكسيد النتريك وتنسيلها جميعاً وتعيين مواضع جيناتها على الكروموسومات البشرية. وقد ساعدت تجارب تخريب الجينات (Gene knockout) باستعمال التأشيب المثلي (الفصل 42) على كل من هذه النظائر الثلاثة في إثبات بعض الوظائف المفترضة لأكسيد النتريك.

وخلاصة القول، لقد بينت الأبحاث في العقد الماضي أن أكسيد النتريك يشغل موقعاً هاماً في عدد من الأدوار الفيزيولوجية والمرضية.



الشكل 58-13 : مخطط يبدي تشكل أكسيد النتريك (NO) في خلية بطانية من الأرجينين في تفاعل محفز بسنتاز أكسيد النتريك. وقد يؤدي تآثر ناهض (كالأسيتيل كولين) مع مستقبله (R) إلى إطلاق أيونات الكالسيوم (Ca^{2+})داخل الخلية بواسطة ثلاثي فسفات الإينوزيتول المتشكل خلال سبيل فسفو الإينوزيتيد مما يؤدي إلى تنشيط سنتاز (مُخَلِّقة) أكسيد النتريك، ثم ينتشر أكسيد النتريك إلى العضل الأملس المجاور حيث يقوم بتنشيط مُحَلِّقَة الجوانيليل ويتشكل الجمب الحلقي (cGMP) فتنشط كينازات البروتين المعتمدة على الجمب الحلقي (cGMP) ويحدث الارتخاء. ويبدو النيتروجليسيرين، الموسع للأوعية، وهو يدخل الخلية العضلية الملساء، حيث يؤدي أيضه إلى تشكيل أكسيد النتريك.

النمط الفرعي	الاسم[1]	ملاحظات	نتيجة تخريب الجين في الفئران [2]
1	nNOS	يعتمد النشاط على زيادة أيونات الكالسيوم، وأول ما كشف في العُصبونات، وهو ينشط بالكالمُودُولين	تضيق البواب، مقاومة السكتة الوعائية، سلوك جنسي عدواني (الذكور)
2	iNOS [3]	مستقلة عن زيادة أيونات الكالسيوم. أغلب في البلاعم	استعداد أكبر نحو أنماط معينة من العدوى
3	eNOS	يعتمد النشاط على زيادة أيونات الكالسيوم أول ما كشف في الخلايا البطانية	ارتفاع ضغط الدم الوسطي

الجدول 58-8 : ملخص لتسمية إنزيمات سينثاز (مُخَلِّقة) أكسيد النتريك وتأثيرات تخريب جيناتها في الفئران.

1 – n = عصبوني؛ i = قابل للتحريض؛ e = بطاني.

2 – أجري تخريب الجين بالتأشيب المثلي في الفئران (الفصل 42). وتوصف الإنزيمات بأنها إنزيمات عصبونية أو قابلة للتحريض (البلاعم) أو بطانية لأن هذه هي المواضع التي كشفت فيها لأول مرة. ولكن تبين أن هذه الإنزيمات الثلاثة جميعها توجد في مواضع أخرى، وأن الإنزيم العصبوني قابل للتحريض أيضاً. وقد أمكن تنسيل الأنماط الثلاثة، وتعيين موضعها على الصبغيات البشرية.

3 – لا يعتمد iNOS على أيونات الكالسيوم، لكنه يربط الكالمودولين بقوة كبيرة.

تتجدد مخازن الأتب (ATP) في العضل بعدة آليات:

يمكن أن يعاد توليد الأتب (ATP) اللازم كمصدر ثابت للطاقة خلال دورة التقلص والارتخاء العضليين من خلال (1) تحلل الجلوكوز، باستعمال جلوكوز الدم أو الجليكوجين العضلي، (2) وبالفسفتة الأكسدية، (3) ومن فسفات الكرياتين، (4) ومن جزيئين من الأدب (ADP) بتفاعل تحفزه كيناز الأدينيليل (الشكل 58-14). وتكون كمية الأتب (ATP) في العضلة الهيكلية كافية فقط لتأمين الطاقة للتقلص على مدى ثانية واحدة إلى اثنتين، لذلك يجب تجديد الأتب (ATP) باستمرار من واحد أو

أكثر من المصادر السابقة بحسب الظروف الأيضية. وهناك على الأقل، كما هو مبين لاحقاً، نمطان متميزان من الأَلياف في العضل الهيكلي، أحدهما فعال بشكل سائد في الشروط الهوائية والآخر في الشروط اللاهوائية، وكلاهما يستعمل كل مصادر الطاقة السابقة، لكن بدرجات مختلفة.

* موسع وعائي هام في تنظيم الضغط الدموي.
* يساهم في انتصاب القضيب، وتؤثر سترات السلدينافيل (الڤياجرا (Viagra)) في هذه العملية بتثبيط فُسفودَايستراز الجمب الحلقي (cGMP).
* ناقل عصبي في الدماغ والجملة العصبية المستقلة المحيطية.
* له دور في الكمون طويل الأمد.
* له دور في السمية العصبية.
* يساهم المستوى المنخفض لأكسيد النتريك في إحداث تشنج البواب في تضيق البواب الضخامي لدى الأطفال.
* يمكن أن يكون له دور في ارتخاء العضل الهيكلي.
* قد يشكل جزءاً من الجملة المناعية الأولية.
* يثبط التصاق الصفيحات وتنشيطها وتكديسها.

الجدول 9-58 : بعض الوظائف الفيزيولوجية والمساهمات المرضية لأكسيد النتريك.

يحتوي العضل الهيكلي على موارد كبيرة من الجليكوجين:

تحتوي الهيولي العضلية في العضل الهيكلي على مخازن كبيرة من الجليكوجين متوضعة في حبيبات قريبة من الأشرطة I. ويعتمد إطلاق الجلوكوز من الجليكوجين على فسفوريلاز الجليكوجين النوعية في العضل (الفصل 20)، والتي يمكن تنشيطها بأيونات الكالسيوم والإبينيفرين والأمب (AMP) وحتى يتولد الجلوكوز 6– فسفات ليدخل سبيل تحلل السكر في العضل الهيكلي لابد من تنشيط فسفوريلاز الجليكوجين b إلى الفسفوريلاز a بواسطة الفسفتة بكيناز الفسفوريلاز b (الفصل

20). وتحرض أيونات الكالسيوم تنشيط كيناز الفسفوريلاز b بالفسفتة أيضاً. وهكذا، تبتدئ أيونات الكالسيوم التقلص العضلي وتنشط السبيل اللازم لتأمين الطاقة الضرورية. كما ينشط هرمون الإبينيفرين تحلل الجليكوجين في العضل. ويمكن أن ينشط الأمب (AMP) الناتج عن تحطم الأدب (ADP) خلال الجهد العضلي إنزيم الفسفوريلاز b أيضاً من دون الفسفتة. وتكون فسفوريلاز الجليكوجين العضلي عاطلة في داء ماك آردل (McArdle)، وهو من أمراض اختزان الجليكوجين (الفصل 20).

في الشروط (الأحوال) الهوائية، يولد العضل الأتب (ATP) بالفسفتة الأكسدية بشكل رئيسي:

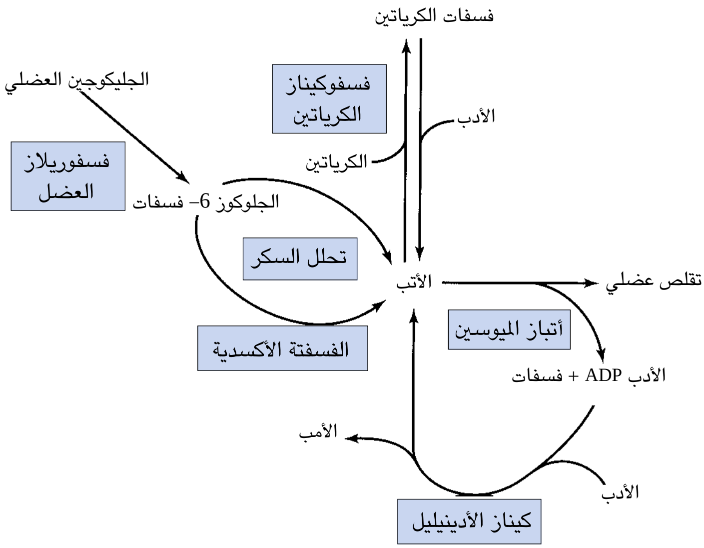
يتطلب تخليق الأتب (ATP) بالفسفتة الأكسدية وجود الأكسجين. وتخزن العضلات التي تتصف بحاجة كبيرة للأكسجين نتيجة تقلصها المستمر (للحفاظ على الوضعية مثلاً) هذا العنصر مرتبطاً بجزئية الهيم في الجلوبين العضلي (الفصل 7). وبسبب جزيء الهيم، تكون العضلات المحتوية على الجلوبين العضلي (الميوجلوبين) حمراء في حيث تكون العضلات التي لا تحتوي عليه أو تحتوي على القليل منه بيضاء. ويعد الجلوكوز المشتق من جلوكوز الدم أو من الجليكوجين داخلي المنشأ والأحماض الدهنية المشتقة من ثلاثيات الجليسيرول في النسيج الدهني الركائز الأساسية المستخدمة للأيض الهوائي في العضل.

تشكل فسفات الكرياتين مستودع الطاقة الرئيسي في العضل:

تمنع فسفات الكرياتين نفاذ الأتب (ATP) بسرعة، وذلك بتأمين فسفات عالية الطاقة بسهولة يمكن استخدامها لتجديد الأتب (ATP) انطلاقاً من الأدب (ADP). وتتشكل فسفات الكرياتين من الأتب (ATP) والكرياتين (الشكل 58-14) عندما يكون العضل في حالة ارتخاء وحاجته للأتب (ATP) غير كبيرة. وتقوم كيناز الكرياتين CK بتحفيز فسفتة الكرياتين، وهذا الإنزيم نوعي للعضل وله استخدام سريري في كشف الأمراض العضلية الحادة أو المزمنة.

كيناز الأدينيليل هي المسؤولة عن التحول البيني لمركبات أحادي وثنائي وثلاثي فسفات الأدينوزين:

تحفز كيناز الأدينيليل تشكيل جزيء واحد من الأتب (ATP) وجزيء واحد من الأمب (AMP) اعتباراً من جزيئين من الأدب (ADP). ويقترن هذا التفاعل (الشكل 14-58) بحلمهة الأتب (ATP) بواسطة أتباز الميوسين خلال التقلص العضلي.



الشكل 14-58 : المصادر العديدة للأتب (ATP) في العضل.

يمكن نزع أمين الأمب (AMP) المنتج سابقاً بنازعة أمين الأمب (AMP)، فيتشكل IMP والأمونيا:

$$AMP + H_2O \longrightarrow IMP + NH_3$$

ولذلك فالعضل مصدر للأمونيا (تنتج أيضاً بتفاعل تحفزه نازعة أمين الأدينوزين الموصوف أدناه). نتخلص من هذه الأمونيا في الكبد من خلال دورة اليوريا حيث

(الفصل 31) . كما يمكن أن يتأثر الأمب (AMP) بالإنزيم 5´– نوكيوتيداز فتتحلمه الفسفات وينتج الأدينوزين:

$$AMP + H_2O \longrightarrow Adenosine + P_i$$

يعمل الأدينوزين كموسع للأوعية، فيزيد الجريان الدموي والإمداد بالغذيات إلى العضل . كما يكون الأدينوزين بدوره ركيزة لنازعة أمين الأدينوزين، فينتج الإينوزين والأمونيا:

$$Adenosine + H_2O \longrightarrow Inosine + NH_3$$

ينشط كل من الأمب (AMP) وجذر الفسفات والأمونيا المتشكلة خلال مختلف التفاعلات السابقة إنزيم الفسفوفركتوكيناز – 1 (PFK-1)، وبذلك يزداد معدل تحلل السكر في العضل خلال التمارين السريعة، كما هو الأمر خلال العدو.

يحتوي العضل الهيكلي على ألياف للنفضات البطيئة (حمراء) والسريعة (بيضاء):

لقد اكتشفت أنماط مختلفة من الألياف في العضل الهيكلي. ويقسمها أحد التصنيفات إلى ألياف من النمط الأول I (النفضة البطيئة) ومن النمط الثاني A (نفضة سريعة ـ أكسدية) والنمط الثاني B (نفضة سريعة ـ تحلل السكر). وللتبسيط، سندرس نمطين فقط: النمط الأول (نفضة بطيئة، أكسدية) والنمط الثاني (نفضة سريعة، تحلل السكر) (الجدول 58-10). وتكون ألياف النمط الأول حمراء لأنها تحتوي على الميوجلوبين والمتقدرات ويكون أيضها هوائياً ويمكن أن تحافظ على التقلص الممتد نسبياً. وأما الألياف من النمط الثاني، والتي تفتقر إلى الميوجلوبين، فتحتوي على القليل من المتقدرات وتكون بيضاء وتحصل على طاقتها من تحلل السكر اللاهوائي وتبدي فترات قصيرة نسبياً من التقلص. وتختلف نسبة هذين النمطين من الألياف بين عضلات الجسم، حسب الوظيفة (تساهم أو لا تساهم العضلة في التقلص الممتد، كالحفاظ على الوضعية). كما تختلف النسبة بالتدريب

فيزداد عدد الألياف من النمط الأول ــ مثلاً ــ في بعض عضلات الساق في الرياضيين الذين يتدربون على العدو الطويل (الماراثون)، في حين يزداد عدد ألياف النمط الثاني في عدائي المسافات القصيرة (Sprinter).

	النمط الأول (النفضة البطيئة)	**النمط الثاني (النفضة السريعة)**
أتباز ATPase الميوسين	منخفضة	مرتفعة
استهلاك الطاقة	منخفض	مرتفع
المتقدرات	كثيرة	قليلة
اللون	أحمر	أبيض
الميوجلوبين	نعم	لا
معدل التقلص	بطيء	سريع
المدة	مديدة	قصيرة

الجدول 10-58 : خصائص ألياف النمط الأول والثاني في العضل الهيكلي.

يستخدم عداء المسافات القصيرة فسفات الكرياتين وتحلل السكر اللاهوائي لإنتاج الأتب (ATP)، في حين يستخدم عداء المسافات الطويلة الفسفتة الأكسدية:

في ضوء نمطي الألياف في العضل الهيكلي ومختلف مصادر الطاقة الموصوفة سابقاً، يصبح من المهم مقارنة دورها في عدو المسافات القصيرة (100 متر مثلاً) وفي العدو الطويل (43.2 كم، أكثر من 26 ميلاً) (الجدول 11-58).

فسفات الكرياتين هي المصدر الرئيسي للطاقة في عدو 100 متر (الثواني الأربعة

أو الخمسة الأولى)، ثم يكون مصدرها هو تحلل السكر اللاهوائي باستعمال الجليكوجين العضلي كمصدر للجلوكوز. كما يكون الموضعان الرئيسيان للتحكم الأيضي هما عند إنزيمي فسفوريلاز الجليكوجين والفسفوفركتوكيناز (PFK-1). وكما شرحنا سابقاً، ينشط الإنزيم الأول بأيونات الكالسيوم (التي تطلق من الشبكة الهيولية العضلية خلال التقلص) وبالإبينفرين والأمب (AMP). وتنشط PFK-1 بواسطة الأمب (AMP) والفسفات والأمونيا. ويؤكد كفاءة هذه العمليات التنظيمية، أنه يمكن أن يزيد التدفق عبر تحلل السكر بمقدار 1000 ضعف خلال العدو.

عداء 100 متر	عداء مسافات طويلة
تستخدم ألياف النمط الثاني (تحلل السكر) بشكل رئيسي	تستخدم ألياف النمط الأول (الأكسدة) بشكل رئيسي
فسفات الكرياتين هي مصدر الطاقة الرئيسي خلال الثواني الأربع أو الخمسة الأولى	الأتب (ATP) هو مصدر الطاقة الرئيسي خلال كامل العدو
الجلوكوز المشتق من جليكوجين العضل والمتأيض في تحلل السكر اللاهوائي هو المصدر الرئيسي للوقود	جلوكوز الدم والأحماض الدهنية الحرة هما مصدرا الوقود الرئيسيان
ينضب الجليكوجين العضلي بسرعة	ينضب الجليكوجين العضلي ببطء

الجدول 58-11 : أنماط الألياف العضلية ومصادر الوقود الرئيسية التي يستخدمها عداء المسافات القصيرة وعداء المسافات الطويلة

وبالمقابل، يكون الأيض الهوائي في عداء المسافات الطويلة هو المصدر الأساسي للأتب (ATP). وتكون مصادر الوقود الرئيسية هي جلوكوز الدم والأحماض الدهنية الحرة، والتي تشتق بشكل رئيسي من تحطم ثلاثيات أسيل الجليسرول في النسيج الدهني، بتنبيه الإبينيفرين. ويتدرك الجليكوجين الكبدي للحفاظ على مستوى

جلوكوز الدم. كما يكون الجليكوجين العضلي مصدراً للوقود ولكنه يتدرك بشكل متدرج أكثر مما في العدو العادي. ولقد حسبت كميات الجلوكوز في الدم والجليكوجين في الكبد والجليكوجين في العضل وثلاثي أسيل الجليسرولات في النسيج الدهني وتبين أنها كافية لإمداد العضل بالطاقة خلال عدو المسافات الطويلة لمدة 4 دقائق و 18 دقيقة و 70 دقيقة ونحو 4000 دقيقة على الترتيب. ولكن يكون معدل أكسدة الأحماض الدهنية بواسطة العضل أبطأ من أكسدة الجلوكوز، لذلك تكون أكسدة الجلوكوز والأحماض الدهنية هما المصدران الرئيسيان للطاقة في عدو المسافات الطويلة.

للإجراءات المعاكسة لتعب العضل ونقص قوته أسس كيميائية حيوية:

تعب العضلات خلال التمرين ظاهرة يعاني منها كل شخص تقريباً، فما هو سببها؟ السبب الرئيسي ليس تراكم اللاكتات في النسيج العضلي بسبب تحلل السكر اللاهوائي كما يظن، وإنما تراكم البروتونات. وقد أثبتت هذه الحقيقة بالتجربة حيث أنه ليس من الضروري أن يتلو تسريب اللاكتات تعب عضلي. ويمكن أن تؤدي زيادة البروتونات (نقص الباهاء (pH)) إلى التأثير في وظيفة العضل بعدد من الطرق بما فيها: (1) إنقاص V_{max} لإنزيم الفسفوفركتوكيناز (PFK-1)، (2) وإقلال إطلاق أيونات الكالسيوم من الشبكة الهيولية العضلية، (3) وإقلال نشاط أتباز الأكتوميوسين، (4) وربما بالتأثير في هيئة بعض البروتينات العضلية المساهمة في التقلص.

لقد كان تحميل السكريات (يدعى أيضاً باسم «تقطير الجليكوجين» و «عدم التحميل والتحميل») شائعاً بين عدائي المسافات الطويلة. والهدف من ذلك هو ملء العضلات بمقدار أعظمي من الجليكوجين الممكن قبل السباق. ومن الطرق التي تحقق ذلك تناول مقدار قليل جداً من السكريات في الغذاء لمدة 3 أيام، ثم إنضاب مخازن الجليكوجين أكثر بالعدو حتى الإنهاك، ثم تناول السكريات بمقدار كبير خلال آخر 3 أيام قبل السباق.

يقوم تحميل الصودا (Soda loading) على تناول بيكربونات الصوديوم في محاولة لدرء إنتاج البروتونات خلال التمرين. ومن غير المحتمل أن يكون لذلك أي

تأثير في العدو، لأن معظم البروتونات المنتجة في هذه المحاولة تبقى في العضل. وقد نحصل على بعض الفائدة في عدو 800 متر، لأن البروتونات يمكن أن تتحرك من العضل إلى مجرى الدم خلال هذه المدة. ويبدو أن ذلك يكون قليل الفائدة في عدو المسافات الطويلة الذي يشمل بشكل رئيسي الأيض الهوائي، مع إنتاج اللاكتات والبروتونات بشكل أقل.

يقوم الإحماء الدموي (Blood doping) على إعطاء الرياضيين عينات من كريات دمهم الحمراء قبل السباق مباشرة. تسحب العينات (1 لتر تقريباً) قبل نحو 5 أسابيع من السباق وتحفظ بدرجة حرارة منخفضة. وهناك بعض البينات على أن ذلك قد يفيد في عدو المسافات الطويلة مما يوحي بأن توفر الأكسجين هو المحدد الرئيسي للأداء.

يتناول الكثير من الرياضيين الكرياتين فموياً لتعزيز الأداء خلال الجهود الشديدة جداً قصيرة الأمد. وقد أشارت بضع دراسات إلى أن ذلك قد يؤثر في الإنجاز العضلي بشكل إيجابي لكن ذلك لا يمكن أن يعد مسألة قاطعة.

يعد الأندروستنديون (Androstenedione) أندروجيناً طبيعياً ضعيفاً (انظر الفصل 48). ولقد استخدم أيضاً من قبل الرياضيين (مثل لاعب كرة القاعدة الأمريكي، مارك مجواير [McGwire]) لزيادة كتلة العضل وتحسين أدائه. ولكن أصبح استعماله واستعمال الستيرويدات الابتنائية الأخرى محظوراً في الكثير من الرياضات.

يشكل العضل الهيكلي المدخر الرئيسي للبروتين في الجسم:

البروتين العضلي الهيكلي في الإنسان هو المصدر غير الشحمي الرئيسي للطاقة المخزونة. وهذا ما يفسر الخسارة الكبيرة جداً في الكتلة العضلية الناجمة عن التغذية المديدة ناقصة الكالوري (خاصة عند البالغين).

إن دراسة تحطم البروتينات النسيجية في الكائن الحي صعبة جداً لأنه يمكن أن يعاد استخدام الأحماض الأمينية المتحررة داخل الخلية خلال التحطم بشكل واسع في تخليق البروتين ضمن الخلية، أو يمكن أن تنقل إلى الأعضاء الأخرى حيث تدخل السبل الابتنائية.

تجري مثيلة الأكتين والميوسين في العضل بتفاعل يتم بعد الترجمة وتشكل 3 – ميثيل الهيستيدين؛ وخلال تحطم هذين البروتينين، يطلق هذا المشتق الهيستيديني ويفرغ في البول. ولهذا يعطي محتوى البول من الأحماض الأمينية المَثْيَلة مؤشراً موثوقاً على معدل تحطم البروتينات العضلية الليفية للمجموع العضلي لدى الإنسان.

يتميز العضل الهيكلي بازدياد معدل تدرك بعض الأحماض الأمينية وتخليق بعضها الآخر. ويبدو أن العضل في الثدييات هو المقر الرئيسي لتقويض الأحماض الأمينية ذات السلسلة المتفرعة. ويؤكسد العضل اللوسين إلى ثاني أكسيد الكربون، ويحول الهياكل الكربونية للإيزولوسين والفالين والأسبارتات والأسباراجين والجلوتامات إلى متوسطات متقالبة (Amphibolic) في دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل. وتزداد قدرة العضلات على تدريك الأحماض الأمينية ذات السلسلة المتفرعة بمقدار 3-5 أضعاف مما هي عليه خلال الصيام وفي المصابين بالداء السكري. كما يخلق العضل الألانين والجلوتامين ويطلق مقادير كبيرة منها. ويجري تخليق أمثال هذه المركبات باستخدام مجموعات أمينية تتولد من تحطم الأحماض الأمينية ذات السلسلة المتفرعة، ثم ينقل نتروجين الأمين إلى ألفا ـ كيتوجلوتارات وبيروڤات بواسطة نقل الأمين. ويؤمن تحلل السكر من الجلوكوز خارجي المنشأ كل البيروڤات اللازمة لتخليق الألانين تقريباً. وتشكل هذه التفاعلات ما يدعى دورة الجلوكوز والألانين التي تفيد في استخدام الألانين القادم من العضل في استحداث السكر الكبدي ونقل المجموعات الأمينية في الوقت نفسه إلى الكبد لنزعها على شكل يوريا. يلخص (الجدول 58-12) ملامح الأيض العضلي.

يقوم هيكل الخلية بعدة وظائف خلوية:

تقوم الخلايا غير العضلية بعمل ميكانيكي أيضاً بما في ذلك الدفع الذاتي (Self-propulsion) والتخلق (Morphogenesis) والانشطار (Cleavage) والالتقام (Endocytosis) والإيماس (Exocytosis) والنقل داخل الخلية وتغيير مظهر الخلية. وتنجز هذه الوظائف الخلوية بواسطة شبكة واسعة من البنى الخيطية داخل الخلوية تشكل بمجملها هيكل الخلية (Cytoskeleton).

* يقوم العضل الهيكلي بوظيفته في الشروط الهوائية (الراحة) واللاهوائية (مثل العدو) معاً، لذلك ينشط تحلل السكر الهوائي واللاهوائي حسب الظروف.
* يحتوي العضل الهيكلي على الميوجلوبين الذي يقوم بوظيفة مخزن الأكسجين.
* يحتوي العضل الهيكلي على أنماط مختلفة من الألياف تناسب بشكل رئيسي الشروط اللاهوائية (ألياف النفضة السريعة) أو الهوائية (ألياف النفضة البطيئة).
* يعد الأكتين والميوسين والتروبوميوسين ومعقد التروبونين (TpT وTpI وTpC) والأتب (ATP) وأيونات الكالسيوم المقومات الأساسية فيما يخص التقلص.
* أتباز الكالسيوم وقناة إطلاق الكالسيوم والكالسيكويسترين بروتينات تساهم في مختلف مظاهر أيض أيونات الكالسيوم في العضل.
* يعمل الإنسولين على العضل الهيكلي بزيادة قبط الجلوكوز.
* يستخدم معظم الجلوكوز بعد الطعام لتخليق الجليكوجين الذي يعمل كمخزن للجلوكوز يستعمل خلال التمارين، ويلجأ إلى التحميل السابق بالجلوكوز من قبل بعض عدّائي المسافات الطويلة لبناء مدخرات الجليكوجين.
* ينبه الأبينيفرين تحلل الجليكوجين في العضل الهيكلي في حين لا يقوم الجلوكاكون بذلك بسبب غياب مستقبلاته.
* لا يمكن أن يساهم العضل الهيكلي مباشرة في جلوكوز الدم لأنه لا يحتوي على إنزيم الجلوكوز – 6 – فسفاتاز.
* تَعبُر اللاكتات المنتجة بالأيض اللاهوائي في العضل الهيكلي إلى الكبد الذي يستخدمها لتخليق الجلوكوز الذي يمكن أن يعود بعدئذ إلى العضل (دورة كوري).
* يحتوي العضل الهيكلي على الفسفوكرياتين الذي يعمل كاحتياطي للطاقة يختص بالمتطلبات قصيرة الأمد (ثوان).
* تُعَد الأحماض الدهنية الحرة في البلازما مصدراً رئيسياً للطاقة لاسيما خلال عدو المسافات الطويلة والمَخْمَصة المديدة.
* يمكن أن يستهلك العضل الهيكلي الأجسام الكيتونية خلال الجوع (المخمصة).
* العضل الهيكلي هو المقر الرئيسي لأيض الأحماض الأمينية ذات السلسلة المتفرعة التي تستخدم كمصدر للطاقة.
* يعطي تحلل بروتين العضل خلال المخمصة الأحماض الأمينية اللازمة لاستحداث السكر.
* الأحماض الأمينية الرئيسية التي تخرج من العضل هي الألانين (يخصص بشكل رئيسي لاستحداث السكر في الكبد ويشكل جزءاً من دورة الجلوكوز والألانين) والجلوتامين (يخصص بشكل رئيسي للمعي والكلى).

الجدول 12-58 : ملخص الملامح الرئيسية للكيمياء الحيوية للعضل الهيكلي المرتبطة بأيضه [1].

1 –تتجمع مادة هذا الجدول من فصول مختلفة من هذا الكتاب.

إذن، ليست الهيولى الخلوية مجرد كيس من السائل كما يظن، بل تحتوي كافة خلايا حقيقيات النوى تقريباً على ثلاثة أنماط من البنى الخيطية (الخيوط (Filaments) هي خيوط الأكتين (Actin filaments) قطرها 7-9.5 نم، وتدعى أيضاً الخيوط الدقيقة (Microfilaments) (أو الخييطات) والنُّبَيْبات الدقيقة أو الأنَيْبيبات (microtubules) (25 نم) والخيوط المتوسطة (Intermediate filaments) (10-12نم). ويمكن تمييز كل نمط من هذه الخيوط كيميائياً حيوياً وبالمجهر الإلكتروني.

تحتوي الخلايا غير العضلية على الأكتين الذي يشكل الخيوط الدقيقة:

يوجد الأكتين G في معظم خلايا الجسم إن لم يكن فيها جميعاً. وهو يتبلمر (Polymerize) بشكل تلقائي، بوجود تراكيز مناسبة من المغنيسيوم وكلوريد البوتاسيوم، لتشكيل خيوط الأكتين F الحلزونية المضاعفة كتلك المشاهدة في العضل. وهناك على الأقل نمطان من الأكتين في الخلايا غير العضلية: الأكتين ـ بيتا والأكتين ـ جاما، ويمكن أن يوجد كلا النمطين معاً في الخلية نفسها وربما يتبلمَران معاً في الخيط نفسه. ويشكل الأكتين F في الهيولى الخلوية خُيَيْطات بقطر 7-9.5 نم كثيراً ما توجد بشكل حزم من شبكة شبيهة بالحبيكة (Tangle). وتصل هذه الحزم حتى ما قبل الغشاء البلازمي تماماً في عدد من الخلايا ولذلك تدعى ألياف الإجهاد. وتختفي ألياف الإجهاد عندما تزداد حركية الخلايا أو عند حدوث تحول خبيث في الخلايا بفعل المواد الكيميائية أو الڤيروسات الورمية.

ومع أنها غير متعضية كما في الخلايا العضلية، تتآثر خيوط الأكتين في الخلايا غير العضلية مع الميوسين لتحقيق الحركات الخلوية.

تحتوي النبيبات الدقيقة أو الأنيبيبات على توبولينات ألفا وبيتا:

تتألف النبيبات الدقيقة (الأنيبيبات: Microtubules) وهي مكون صميمي في هيكل الخلية ـ من أنابيب هيولية بقطر 25 نم، وبطول فائق غالباً. وتكون الأنبيبات ضرورية لتشكيل مغزل الانقسام (Mitotic spindle) وقيامه بوظيفته ومن ثم فهي

توجد في كافة خلايا حقيقيات النوى. كما تساهم في الحركة داخل الخلية للحويصلات الالتقامية والإيماسية، وتشكل المكونات البنيوية الرئيسية للأهداب والسياط (Flagella). وتعد الأنيبيبات مكوناً رئيسياً للمحاوير والتغضنات بحيث تحافظ على بنيتها وتساهم في الجريان الهيولي المحواري للمواد على طول هذه الاستطالات العصبونية.

تعد الأنيبيبات (النبيبات الدقيقة) أسطوانات من خيوط بروتينية مرتبة بشكل طولاني، يتألف كل منها من مثنويات للتوبولين – ألفا والتوبولين – بيتا، وهي بروتينات ذات صلة وثيقة بعضها ببعض وتبلغ الكتلة الجزيئية لكل منها نحو 50 ك. دالتون. وتتجمع مثنويات التوبولين (Tubulin dimers) لتشكل خيوطاً أولية (Protofilaments) ثم صفائح فأسطوانات. ويؤدي المركز المنظم للأنيبيب، والمتوضع حول زوج من المريكزات، دور النواة التي تنمو نبيبات دقيقة جديدة انطلاقاً منها. وهناك نمط ثالث من التوبولين، هو التوبولين ـ جاما الذي يبدو أنه يلعب دوراً هاماً في هذا التجميع الذي يتطلب النوكليوتيد GTP. وتترافق بروتينات مختلفة مع الأُنَيْبيبات (البروتينات المرتبطة بالأُنَيْبيبات (MAPs)) وأحدها هو بروتين التاو (tau) وتمارس أدواراً هامة في تجميع الأُنَيْبيبات وتثبيتها. وتكون الأنيبيبات في حالة عدم استقرار ديناميكي (تجميع وتفكك مستمرين)، وتبدي قطبية (نهايات سلبية وأخرى إيجابية)، وهذا أمر هام في نموها انطلاقاً من المُريكزات وفي قدرتها على توجيه الحركة داخل الخلية. ففي النقل المحواري (Axonal transport) مثلاً، يقوم بروتين الكينيزين (kinesin) الذي يتصف بنشاط أتبازي شبيه بالميوسين) باستخدام حلمهة الأتب (ATP) لتحريك الحويصلات في المحوار نحو النهاية الإيجابية للأُنَيْبيبات. ويكتسب جريان المواد في الاتجاه المعاكس (نحو النهاية السلبية) طاقته من دينين العصارة الخلوية (Cytosolic dynein)، وهو بروتين آخر يتمتع بنشاط أتبازي. وبالمثل، تقوي الدينينات المحوارية حركة الأهداب والسياط. ويستخدم بروتين آخر ـ هو الدينامين (Dynamin) ـ النوكليوتيد GTP ليساهم في الالتقام الخلوي. وتدعى الكينيزينات والدينينات والدينامين والميوسينات باسم المحركات الجزيئية (Molecular motors).

يؤدي غياب الدينين في الأهداب والسياط إلى انعدام حركتها مما يقود إلى عقم الذكر وعدوى تنفسية مزمنة، وتدعى هذه الحالة باسم متلازمة كارتاجنر (Kartagener syndrome).

ترتبط بعض الأدوية بالأُنَيْبيبات فتعيق تجميعها أو تفككها. ومن هذه الأدوية الكولشيسين (يستخدم لمعالجة التهاب المفاصل النقرسي الحاد) والڤنبلاستين (قلواني من قلوانيات الڤينكا، يستخدم لمعالجة بعض أنماط السرطان) والباكليتكسيل (paclitaxel) (التاكسول) (فعال ضد سرطان المبيض) والجريزيوفلڤين (عامل مضاد للفطريات).

تختلف الخيوط المتوسطة عن الخيوط الدقيقة والأنيبيبات:

توجد جملة ليفية داخل الخلية مكونة من خيوط ذات دورية محورية كل 12 نم، وبقطر 8-10 نم (تتوسط الخيوط الدقيقة (6 نم) والأنيبيبات (23 نم)). وتوجد أربعة أصناف من الخيوط المتوسطة (الجدول 58-13) وكلها جزيئات ليفية متطاولة ذات حقل عصوي مركزي ورأس مطرافي أميني وذيل مطرافي كربوكسيلي. وهي تشكل بنية شبيهة بالحبل، وتكون الخيوط الناضجة مكونة من رباعيات مكدسة بعضها مع بعض بطريقة حلزونية. وتعد هذه الخيوط مكونات بنيوية هامة في الخلايا ومعظمها مكونات مستقرة نسبياً للهيكل الخلوي لا تخضع للتجميع والتفكيك السريعين كما أنها لا تختفي خلال التفتل مثلما يفعل الأكتين والكثير من الأنيبيبات. ويستثنى من ذلك اللامينات التي تؤدي فسفتتها إلى تفككها خلال التفتل ثم تعود للظهور عندما ينتهي.

تشكل الكيراتينات (Keratins) فصيلة كبيرة عرف منها نحو 30 عضواً. ويوجد نمطان رئيسيان من الكيراتينات (الجدول 58-13)، وكلها مثنويات غير متجانسة مكونة من عضو واحد من كل صنف.

تتوزع الڤيمنتينات (Vimentins) بشكل واسع في خلايا الأديم المتوسط (mesodermal)، ويلحق بها كل من الدسمين (Desmin) والبروتين الحمضي الليفي

الدبقي والبيريفيرين (Peripherin). ويمكن أن تتبلمر كافة أعضاء الفصيلة الشبيهة بالفيمنتين مع بعضها البعض. وتغلب الخيوط المتوسطة في الخلايا العصبية، وتصنف الخيوط العصبية إلى خيوط خفيفة ومتوسطة وثقيلة حسب كتلتها الجزيئية. وتشكل اللامينات (Lamins) شبكة بالقرب من الغشاء النووي الداخلي. ويمكن دراسة توزع الخيوط المتوسطة في الخلايا السوية والشاذة (السرطانية مثلاً) باستعمال طرق التألق المناعي مستخدمين أضداداً ذات نوعية مناسبة. ويمكن أن تفيد هذه الأضداد النوعية المضادة للخيوط المتوسطة في مساعدة إخصائيي الباثولوجيا على تحديد أصل بعض الأورام الخبيثة غير المتمايزة، فقد تظل هذه الأورام محتفظة بنمط من الخيوط المتوسطة الموجودة في خلاياها الأصلية.

البروتينات	الكتلة الجزيئية	التوزع
الكيراتينات: النمط الأول (حمضية)	60-40 ك. دالتون	الخلايا الظهارية، الشعر، الأظافر
النمط الثاني (قلوية)	70-50 ك. دالتون	
شبيهة بالفيمنتين: الڤيمنتين الدسمين البروتين الحمضي الليفي الدبقي البيربفيرين	54 ك. دالتون 53 ك. دالتون 50 ك. دالتون 66 ك. دالتون	مختلف الخلايا المتوسطية العضل الخلايا الدبقية العصبونات
الخيوط العصبية: خفيفة (L) ومتوسطة (M) و ثقيلة (H) [1]	130-60 ك . دالتون	العصبونات
اللامينات (Lamins) A و B و C	75-65 ك. دالتون	الصفائح النووية

الجدول 58-13 : أصناف الخيوط المتوسطة في خلايا حقيقيات النوى وتوزعها

1 – تشير الرموز إلى الكتلة الجزيئية.

لقد وجد أن عدداً من الأمراض الجلدية، لا سيما التي تتصف بتكوين فقاعات، ينجم عن طفرات في الجينات المُرمِّزة للكيراتينات المختلفة. ونذكر من هذه الاضطرابات انحلال البشرة الفقاعي البسيط وفرط التقرن البشري الانحلالي والتقرن الراحي الأخمصي. وقد تعكس الفقاعات نقص قدرة الطبقات المختلفة للجلد على مقاومة الإجهاد الميكانيكي الناجم عن شذوذات بنية الخُييطات.

الخلاصة:

تحتوي الألياف العضلية في العضل الهيكلي على خيوط ثخينة ورفيعة. وتحتوي الخيوط الثخينة على الميوسين، بينما تحتوي الخيوط الرفيعة على الأكتين والتروبوميوسين والتروبونينات (T و I و C). ويرتبط الأكتين بالميوسين والتربوميوسين بالأكتين والتروبونين T بالتروبوميوسين والتروبونينات الأخرى، ويثبط التروبونين I تآثر الأكتين والميوسين، ويربط التروبونين C أيونات الكالسيوم، وبذلك يكون المساهم الرئيسي في مجمل عملية التقلص. ويعد نموذج الجسور التصالبيّة للخيوط المنزلقة أساس الفكرة الراهنة عن التقلص العضلي. ويتمثل أساس هذا النموذج في أن الخيوط المتداخلة تنزلق بعضها على بعض خلال التقلص، وتولد الجسور التصالبية بين الميوسين والأكتين التوتر وتحافظ عليه، وتستخدم حلمهة الأتب (ATP) للحصول على حركة الخيوط.

يرتبط الأتب (ATP) برؤوس الميوسين ويحلمه إلى أدب (ADP) وجذر فسفات بالنشاط الأتبازي لمعقد الأكتوميوسين. وتلعب أيونات الكالسيوم Ca^{2+} دوراً رئيسياً في ابتداء التقلص العضلي عبر الارتباط مع التروبونين C. وتقوم الشبكة الهيولية العضلية في العضل الهيكلي بتنظيم توزع أيونات الكالسيوم نحو القسيمات العضلية في حين يكون دخول أيونات الكالسيوم من خارج الليف بواسطة قنواتها في الغمد العضلي ذا أهمية كبيرة في العضل القلبي والأملس. وتشتمل البروتينات في الشبكة الهيولية العضلية، ذات الأدوار المتخصصة في المساهمة في أيض أيونات الكالسيوم، على أتباز أيونات الكالسيوم والكالسيكويسترين وقناة إطلاق أيونات الكالسيوم. وتنجم حالات كثيرة من فرط الحرارة الخبيث في الإنسان عن

طفرات في الجين المرمز لقناة إطلاق أيونات الكالسيوم. ويوجد عدد من الفوارق بين العضل الهيكلي والقلبي، حيث يحتوي الأخير بشكل خاص على ضروب مختلفة من المستقبلات على سطحه. وتنجم بعض حالات اعتلال العضل القلبي الضخامي العائلي عن طفرات مغلطة في الجين المرمز للسلسلة الثقيلة في الميوسين ـ بيتا. ولا يحتوي العضل الأملس، بخلاف العضل الهيكلي والقلبي، على جملة التروبونين بل يبتدئ التقلص فيه بفعل فسفتة السلاسل الخفيفة p للميوسين.

يعد أكسيد النتريك منظماً للعضل الأملس الوعائي اكتشف حديثاً ويؤدي حصر تشكله من الأرجينين إلى زيادة حادة في ضغط الدم مما يدل على أن تنظيم ضغط الدم هو أحد وظائفه الكثيرة. وينجم الحثل العضلي من نمط دوشين (الفصل 65) عن طفرات في جين متوضع على الكروموسوم الجنسي X، يرمز بروتين الديستروفين.

ويوجد نمطان رئيسيان من الألياف العضلية في الإنسان: الأبيض (أيض لاهوائي) والأحمر (هوائي)، ويستخدم الأول بشكل خاص في العدو لمسافات قصيرة والثاني في التمارين الهوائية المديدة. ويستخدم العضل خلال العدو فسفات الكرياتين وتحلل السكر كمصدر للطاقة، وأما في عدو المسافات الطويلة فتكون أكسدة الأحماض الدهنية ذات أهمية كبيرة خلال المراحل المتأخرة.

تقوم الخلايا غير العضلية بأنماط مختلفة من العمل الميكانيكي الذي تنجزه البنى المكونة لهيكل الخلية. وتشتمل هذه البنى على خيوط الأكتين (الخييطات) والأُنَيْبيبات (مكونة بشكل رئيسي من التوبولين ـ ألفا والتوبولين ـ بيتا) والخيوط المتوسطة. وتضم الأخيرة الكيراتينات وبروتينات شبيهة بالڤيمنتين والخيوط العصبية واللامينات.

*** References:**

Ackerman MJ, Clapham DE: Ion channels-basic science and clinical disease. *N Eng1 J Med* 1997;336:1575.

Andreoli TE: Ion transport disorders: Introductory comments. *Am J Med* 1998;104:85. (First of a series of articles on ion transport disorders published between January and August, 1998. Topics covered were structure and function of ion channels, arrhythmias and anti-arrhythmic drugs, Liddle syndrome. Cholera, malignant hyperthermia, cystic fibrosis, The periodic paralyses and Bartter syndrome and Gittleman Syndrome).

Barinagi M: Tracking down mutations that can stop the heart. *Science* 1998;281:32.

Compton JG: Epidermal disease: faulty keratin filaments take their toll. *Nat Genet* 1994;6:6.

Fuller GM, Shields D: *Molecular Basis of Medical Cell Biology*. Appleton & Lange.1998.

Huxley AF: Crossbridge tilting confirmed. *Nature* 1995; 375:361

LAbeits, Kolmerer B: Titins: Giant proteins in charge of muscle ultrastructure and elasticity. *Science* 1995;270:293.

Loke J, MacLennan DH: Malignant hyperthermia and central core disease: Disorders of Ca^{2+} release channels *Am J Med* 1998;104:470.

Mayar B, Hemmens B: Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cell. *Trends Biochem Sci* 1998;22:477.

Molkentin JD et al: A calcineurin-dependent transcriptional pathway for cardiac hypertrophy. *Cell* 1998;93:215.

Sperelakis N (editor): *Cell Physiology Source Book* 2nd ed. Academic Press, 1998.

Squire JM, Morris EP: A new look at thin filament regulation in vertebrate skeletal muscle. FASEB J 1998;12:761.

Worton RG, Brooke MH: The X-linked muscular dystrophies. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 7th ed . Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 1995.

الفصل التاسع والخمسون

بروتينات البلازما والجلوبولينات المناعية تخثر الدم

Plasma Proteins, Immunoglobulins, and Blood Coagulation

مقدمة:

يجول الدم فيما هو في الواقع جملة مغلقة من الأوعية الدموية. ويتكون الدم من عناصر مصمتة (Solid) هي الكريات الحمراء والبيضاء والصفيحات معلقة في وسط سائل هو البلازما (Plasma). وكما سنشير لاحقاً، فإن الدم والبلازما بشكل خاص يقومان بالعديد من الوظائف الضرورية للحفاظ على الصحة.

وعندما يحدث تخثر الدم (أو تجلطه)، فإن الطور السائل الباقي ـ أي المصل ـ تنقصه عوامل التخثر (بما فيها مولد الفبرين) التي توجد بشكل سوي عادة في البلازما، ولكنها تكون قد استهلكت في عملية تخثر الدم. ويحوي المصل بعض نواتج تدرك عوامل التخثر، وهي النواتج التي نشأت خلال عملية التخثر، ولا توجد عادة بشكل سوي في البلازما.

الأهمية الطبية البيولوجية:

إن دور الدم الرئيسي في المحافظة على الاستتباب (Homeostasis) والسهولة التي يمكن الحصول فيها على الدم أعطتا دراسة مكوناته أهمية أساسية في تطور

الكيمياء الحيوية والكيمياء الحيوية السريرية. ويعد كل من الهيموجلوبين والألبومين والجلوبولينات المناعية ومختلف عوامل التخثر من أكثر البروتينات دراسة. وتحصل التغيرات في كميات بروتينات البلازما في العديد من الأمراض، ويمكن مراقبتها بإجراء الرحلان الكهربي. ويكون للتغيرات في نشاط بعض الإنزيمات في البلازما أهمية تشخيصية في العديد من الحالات المرضية. وقد تمثل الحالات النزفية أو التخثرية حالات إسعافية طبية هامة، فالخثارات في الشرايين الإكليلية والدماغية هي السبب الأساسي للموت في أجزاء كثيرة من العالم، ويحتاج التعامل المنطقي مع هذه الحالات إلى فهم واضح لأسس كل من تخثر الدم وانحلال الفبرين.

للدم وظائف عديدة:

تنجز وظائف الدم ـ باستثناء الخلوية النوعية منها كنقل الأكسجين والدفاع المناعي المتواسط بالخلايا ـ بواسطة البلازما الدموية ومكوناتها المختلفة (الجدول 59-1).

تتألف البلازما من الماء والأيونات والمستقلبات والغذيات (Nutrients) والبروتينات والهرمونات. ويكون تركيب البلازما من الماء والأيونات عملياً مماثلاً لتركيب جميع السوائل خارج الخلايا. كما يكون لمقايسة المستويات المصلية لأيونات الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم والكلور وثاني أكسيد الكربون أهمية في تدبير العديد من المرضى.

تحوي البلازما مزيجاً معقداً من البروتينات:

يبلغ تركيز البروتين الكلي في البلازما البشرية نحو 7-7.5 جم/ 100 مل، وتشكل الجزء الأكبر من المواد غير السائلة في البلازما. وتمثل بروتينات البلازما في الواقع مزيجاً معقداً يتضمن ليس فقط البروتينات البسيطة، بل المقترنة أيضاً مثل البروتينات السكرية (Glycoproteins) وأنماطا مختلفة من البروتينات الشحمية (Lipoproteins) وهناك الآلاف من الأجسام المضادة (الأضداد: Antibodies) التي توجد في البلازما البشرية، رغم أن كمية أي ضد منها تكون قليلة جداً في الظروف

السوية. وتظهر الأبعاد النسبية والكتلة الجزيئية لبعض أهم بروتينات البلازما في (الشكل 59-1).

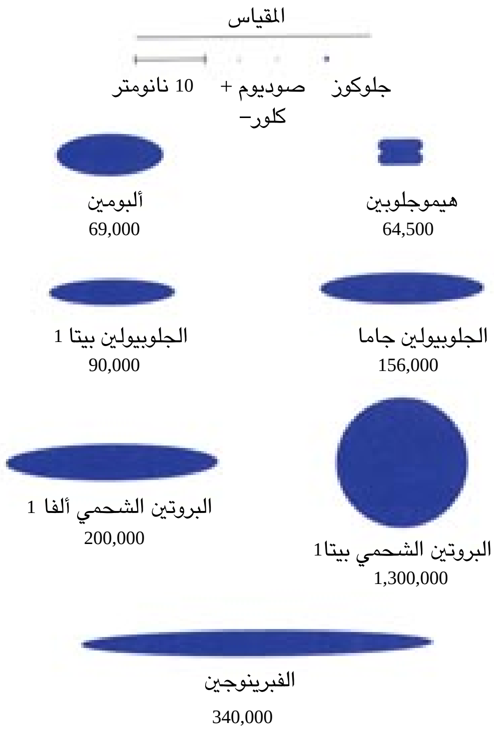
(1) التنفس ـ نقل الأكسجين من الرئتين إلى الأنسجة و CO_2 من الأنسجة إلى الرئتين.
(2) التغذية ـ نقل العناصر الغذائية الممتصة.
(3) الإفراغ ـ نقل فضلات الأيض إلى الكليتين والرئتين والجلد والأمعاء للتخلص منها.
(4) المحافظة على التوازن الحمضي ـ الأساسي السوي في الجسم.
(5) تنظيم توازن الماء عبر تأثيرات الدم في تبادل الماء بين السوائل الجوالة وسائل الأنسجة.
(6) تنظيم حرارة الجسم بتوزيع حرارة الجسم.
(7) الدفاع ضد العداوى (Infection) بواسطة خلايا الكريات البيض الدموية والأضداد الجوالة.
(8) نقل الهرمونات وتنظيم الأيض.
(9) نقل نواتج الأيض.
(10) التخثر.

الجدول 59-1: الوظائف الرئيسة للدم.

ويجري فصل البروتينات من هذا المزيج المعقد باستعمال المذيبات أو الأيونات (أو كليهما) لنزع أجزاء البروتين المختلفة حسب خصائصها الانحلالية. وتعتمد على هذا المبدأ الطرائق المسماة باسم نزع الملح (Salting-out)، والتي تستعمل أحياناً لتقدير أجزاء البروتين في المختبر السريري. وهكذا، يمكن فصل بروتينات البلازما إلى ثلاث مجموعات رئيسية ـ مولد الفبرين أو الفبرينوجين (Fibrinogen) والألبومين (Albumin) والجلوبولينات ـ (Globulins) باستعمال تراكيز مختلفة من سلفات الأمونيوم أو الصوديوم.

والطريقة الأكثر شيوعاً لتحليل بروتينات البلازما هي الرحلان الكهربي (Electrophoresis)، وهناك عدة أنماط منه، تستعمل في كل منها أوساط داعمة (Supporting) مختلفة. وفي المختبرات السريرية تستعمل أسيتات السلولوز

(Cellulose acetate) بشكل واسع كوسط داعم ويسمح استعمالها بعزل بروتينات البلازما بعد التلوين إلى خمس أشرطة، تدعى الألبومين والأجزاء ألفا 1 و ألفا 2 وبيتا وجاما على الترتيب (الشكل 59-2)، وتدعى صفيحة أسيتات السلولوز الملونة أو صفيحة أي وسط داعم آخر بمخطط الرحلان الكهربي. ويمكن أن تقدر كمية هذه الأشرطة الخمسة كمياً باستعمال جهاز تفرس قياس الكثافة. وتلاحظ تغيرات مميزة في كمية شريط أو عصابة واحدة أو أكثر من هذه الأشرطة في العديد من الأمراض.



الشكل 59-1: الأبعاد النسبية والكتل الجزيئية التقريبية لجزيئات البروتين في الدم.

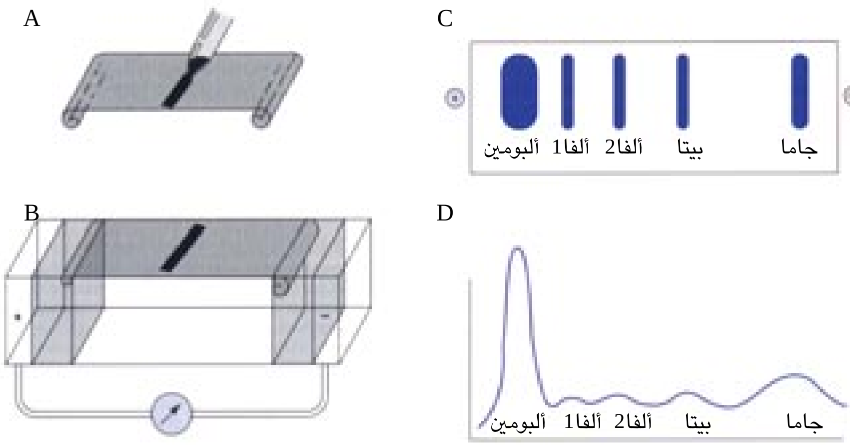
تركيز البروتين في البلازما هام في تحديد توزع السائل بين الدم والأنسجة:

يكون الضغط الهيدروستاتيكي (Hydrostatic pressure) في الشرينات (Arterioles) نحو 37 مم زئبق مع ضغط خلالي (للأنسجة) معاكس له يبلغ 1 مم زئبق في حين يبلغ الضغط التناضحي (Osmotic) أو الجرمي (Oncotic)) لبروتينات البلازما نحو 25 مم زئبق. وبذلك تكون القوة الدافعة للسوائل إلى الأفضية الخلالية نحو 11 مم زئبق. وفي الوريدات، يكون الضغط الهيدروستاتيكي نحو 17 مم زئبق مع الضغط الجرمي والخلالي السابق نفسه. وهكذا، تكون القوة الصافية نحو 9 مم زئبق تجذب الماء ليعود إلى الدوران. وتدعى هذه الضغوط التي نتكلم عنها باسم قوى ستارلنج (Starling forces). وإذا كانت تراكيز بروتينات البلازما ناقصة بوضوح (كما في حالة سوء التغذية البروتيني الشديد)، فإن السوائل لا تنجذب عائدة إلى الجملة الوعائية وتتراكم في أفضية الأنسجة خارج الأوعية وتدعى هذه الحالة باسم الوذمة (Edema) وللوذمة أسباب عديدة وعوز البروتين أحدها.

درست بروتينات البلازما بشكل واسع:

بسبب السهولة النسبية في الحصول على بروتينات البلازما، فقد جرت دراستها بشكل واسع لدى كل من الإنسان والحيوان. وقد توفرت معلومات جيدة حول التَّخليق الحيوي لبروتينات البلازما الأساسية وتقلبها وبنيتها ووظائفها كما جرى تقصي التغيرات التي تجري في كمياتها وفي أيضها في العديد من الحالات المرضية. وفي السنوات الأخيرة، جرى تنسيل العديد من جينات البروتينات البلازمية وتحديد بنيتها.

وقد استخدم الكثير من المحضرات المدرجة في (الجدول 2-7) في دراسة بروتينات البلازما، فقد سهل تحضير الأضداد النوعية لكل من البروتينات البلازمية كثيراً من دراستها بحيث يسمح بترسيب البروتين النقي وعزله عن المزيج المعقد الموجود في الأنسجة أو البلازما. وبالإضافة لذلك فإن استعمال النظائر المشعة (Isotopes) جعل من الممكن تحديد سبل التَّخليق الحيوي لبروتينات البلازما ومعدلات تقلبها.



الشكل 59-2: تقنية الرحلان الكهربي المناطقي (Zone) على أسيتات السلولوز.
A: تنشر كمية قليلة من المصل أو أي سائل آخر على صفيحة أسيتات السلولوز، B: يجرى الرحلان الكهربي للعينة في دارئة كهرلية، C: تبدو أشرطة البروتين المفصولة بشكل مميز بعد تلوينها، D: ويحول تفرس صفيحة أسيتات السلولوز بمقياس الكثافة (Densitometer) الأشرطة إلى قمم مميزة لكل من الألبومين والجلوبولين ألفا1 والجلوبولين ألفا2 والجلوبولين بيتا والجلوبولين جاما.

وقد برزت المعلومات العامة التالية نتيجة الدراسات على البروتينات البلازمية:

أ- يجري تخليق معظم بروتينات البلازما في الكبد: لقد جرى إثبات ذلك بإجراء تجارب على مستوى الحيوان الكامل (مثلاً باستئصال الكبد)، وباستعمال محضر الكبد المروى والمعزول أو مقاطع الكبد أو جناسات الكبد أو جمل الترجمة في المختبرات باستعمال محضرات الرنا المرسال (mRNA) المستخلصة من الكبد. ومع ذلك، فإن الجاما جلوبولينات تخلق في خلايا البلازما وبعض بروتينات البلازما تخلّق في مواضع أخرى كالخلايا البطانية.

ب – يجري تخليق بروتينات البلازما بشكل عام على عديدات الريباسات المرتبطة بالغشاء، ثم تعبر الطريق الإفرازي الرئيسي في الخلية (الغشاء الهيولي الباطني الخشن ثم الغشاء الهيولي الباطني الأملس ثم جهاز جولجي ثم الحويصلات الإفرازية) قبل أن تصل إلى البلازما. وهكذا، فإن معظم بروتينات البلازما يجري تخليقها بشكل سلائف البروتين (Preproteins) التي تحتوي على ببتيدات إشعارية عند النهاية الأمينية (الفصل 43). وتتعرض لاحقاً إلى العديد من التحويرات ما بعد الترجمة (الحل البروتيني، الارتباط بالجليكوزيل، الفسفتة... إلخ) خلال عبورها ضمن الخلية. ويختلف زمن هذا العبور (من موضع التَّخليق إلى البلازما) من 30 دقيقة إلى عدة ساعات أو أكثر بحسب البروتين.

جـ – جميع بروتينات البلازما تقريباً هي بروتينات سكرية: وبذلك يمكن أن تحوي سلاسل قلائل السكريد إما ذات الارتباط – N أو الارتباط – O أو كليهما (الفصل 56)، والألبومين هو الاستثناء الرئيسي: فهو لا يحوي ثمالات سكرية. ولسلاسل قلائل السكريد وظائف متنوعة (الجدول 56-2). وتبين أن نزع ثمالات حمض السياليك المطرافية من بعض بروتينات البلازما (كالسيرولوبلازمين: Ceruloplasmin) بفعل إنزيم النورامينيداز يمكن أن يقلل بوضوح من أعمارها النصفية في البلازما.

د – تبدي العديد من بروتينات البلازما تعدد أشكال: تعدد الأشكال (Polymorphism) هو خلة مندلية أو أحادية الجين توجد في التجمعات البشرية بنمطين ظاهرين (Phenotype) على الأقل ليسا نادرين (أي لا يحصل أي منهما بتواتر يقل عن 1-2 ٪). وتعد عناصر زمر الدم ABO (الفصل 60) هي الأمثلة الأكثر معرفة لتعدد الأشكال البشري. وتتضمن بروتينات البلازما البشرية التي تبدي تعدد أشكال كل من ضد التريبسين ألفا1 والهابتوجلوبين والترانسفيرين والسيرولوبلازمين والجلوبولينات المناعية. وتعرف الأشكال العديدة لهذه البروتينات عادة باستعمال طرق مختلفة (مثل طريقة الرحلان الكهربي على هلامة النشا (Starch gel) أو البأر المتساوي التكهرب (Isoelectric focusing)) والتي يبدي فيها كل شكل هجرة مختلفة عن الآخر تميزه. وقد ثبت بتحليل تَعَدُّد الأشكال البشري أنه ذو أهمية بشرية ووراثية وسريرية.

هـ – لكل بروتين بلازمي عمر نصفي مميز له في الدوران: يمكن تقدير العمر النصفي لأي بروتين بوسم البروتين النقي المعزول باليود المشع I^{131} تحت شروط معتدلة غير ممسخة تتحد فيها هذه النظائر المشعة تساهمياً مع ثمالات التيروزين في البروتين. ثم ينزع اليود المشع غير المرتبط من الوسط، ويتم تقدير النشاط النوعي (التلاشي الإشعاعي لكل دقيقة dpm لكل ملج بروتين). وتحقن بعد ذلك كمية معروفة من البروتين المشع في دم الشخص البالغ السوي، ثم تبزل عينات بفترات زمنية مختلفة لقياس النشاط الإشعاعي ثم نرسم بيانياً قيم النشاط الإشعاعي مقابل الزمن. ويمكن حساب العمر النصفي للبروتين (وهو الوقت الذي يستغرقه هبوط النشاط الإشعاعي من القيمة العليا إلى نصفها) من المخطط البياني، مع حذف الوقت الذي استغرقه البروتين المحقون حتى يتوازن (أو يمتزج) في الدم وفي الأفضية خارج الأوعية. ويقدر العمر النصفي المحسوب للألبومين والهابتوجلوبين لدى الأشخاص الأسوياء الأصحاء بنحو 20 و 5 أيام على التوالي. وفي بعض الأمراض، قد يتغير العمر النصفي للبروتين بوضوح وكمثال على ذلك، في بعض الأمراض الهضمية ـ مثل التهاب اللفائفي الناحي (داء كرون) ـ قد يحصل ضياع لكميات كبيرة من بروتينات البلازما بما فيها الألبومين ضمن الأمعاء عبر المخاطية المعوية الملتهبة. ومرضى هذه الحالة يكون لديهم اعتلال هضمي مضيع للبروتين. ويكون العمر النصفي للألبومين الميودن (الحاوي لليود) المحقون لهؤلاء المرضى لا يزيد عن يوم واحد فقط.

و – يزداد مستوى بعض بروتينات البلازما خلال الحالات الالتهابية الحادة أو ثانوياً لأنماط معينة من تخرب الأنسجة: تدعى هذه البروتينات «بروتينات الطور الحاد» (أو المتفاعلات (Reactants)، وتضم البروتين المتفاعل C (CRP، ويدعى كذلك، لأنه يتفاعل مع عديد السكريد C للمكورات الرئوية) ومضاد التريبسين ألفا$_2$ والهابتوجلوبين والبروتين السكري الحمضي ألفا$_1$ ومولد الفبرين، ويختلف ارتفاع مستويات هذه البروتينات من الضئيل الذي لا يتجاوز 50٪ إلى ما يتجاوز 1000 ضعف (كما في حالة CRP). وترتفع قيم هذه البروتينات عادة أيضاً خلال حالات التهابية مزمنة وفي مرضى السرطان. ومن المعتقد أن هذه البروتينات تلعب دوراً في

استجابة الجسم للالتهاب، فمثلاً يستطيع CRP أن يحرض سبيل المتممة التقليدي، ويستطيع مضاد التريبسين ألفا$_1$ أن يعادل بعض البروتيازات المتحررة خلال الحالة الالتهابية الحادة. ويعد الإنترلوكين-1 (IL-1) وهو عديد ببتيد متحرر من الخلايا البلعمية وحيدة النوى ـ المحرض الأساسي، وليس الوحيد، لتخليق معظم متفاعلات الطور الحاد من قبل الخلايا الكبدية. وتتدخل جزيئات إضافية أخرى، مثل الإنترلوكين 6 (IL-6)، ويبدو أنها – مثل IL1– تعمل على مستوى الانتساخ الجيني.

يلخص (الجدول 59-2) وظائف العديد من بروتينات البلازما. وتقدم الفقرات القادمة معلومات أساسية حول كل من الألبومين والهابتوجلوبين والترانسفيرين والسيرولوبلازمين ومضاد التريبسين ألفا$_1$ والجلوبولين الكبروي ألفا$_2$ والجلوبولينات المناعية وجملة المتممة، وقد نوقشت البروتينات الشحمية في (الفصل 27).

الألبومين هو البروتين الأساسي في البلازما البشرية:

الألبومين هو البروتين الرئيسي في البلازما البشرية (3.4-4.7 ج/100 مل) ويشكل نحو 60٪ من مجمل بروتينات البلازما ويوجد نحو 40٪ منه في البلازما أما الباقي فيوجد في الأفضية خارج الخلايا. وينتج الكبد نحو 12 ج/ اليوم من الألبومين تمثل نحو 25٪ من مجمل تخليق البروتين في الكبد ونصف البروتين الذي يفرزه. ويجري تخليق الألبومين بدئياً بشكل سلف طليعة البروتين (Preproprotein) الذي ينزع ببتيد الإشارة منه عند مروره إلى صهاريج الشبكة الهيولية الباطنة الخشنة، كما يجري شطر الببتيد السداسي عند النهاية الأمينية الناتجة خلال عبوره الطريق الإفرازي. يتثبط تخليق الألبومين في العديد من الأمراض لا سيما الكبدية منها. وتبدي بلازما مرضى الكبد غالباً تناقصاً في نسبة الألبومين إلى الجلوبولينات. ويتناقص تخليق الألبومين باكراً نسبياً في حالات سوء التغذية البروتينية، كما في الكواشيوركور (انظر الحالة 2 في الفصل 65).

الوظيفة	بروتينات البلازما
مضادات البروتيازات	مضادات الكيموتريبسين مضاد التريبسين – ألفا1 (مضاد البروتياز – ألفا1) الجلوبولين الكبروي – ألفا2 مضاد الثرومبين
تخثر الدم	عوامل التخثر المختلفة مولد الفِبرين
الإنزيمات	تعمل في الدم (كعوامل التخثر وإستيراز الكولين) تتسرب من الخلايا أو الأنسجة (كنواقل الأمين)
الهرمونات	الإريثروبويَتين 1
الدفاع المناعي	الجلوبولينات المناعية ، بروتينات المتممة، الجلوبولين الميكروي (الصغروي) بيتا2
تساهم في الاستجابة الالتهابية	بروتينات استجابة الطور الحاد [مثل البروتين المتفاعل C، البروتين السكري الحمضي ـ ألفا 1 (الأوروزوموكويد)]
الورمية الجنينية	ألفا1 – فيتوبروتين (AFP)
بروتينات ناقلة أو رابطة	الألبومين [لجَائن عديدة بما فيها البيليروبين والأحماض الدهنية الحرة والأيونات (Ca^{2+}) والفلِزّات (مثل Cu^{2+}، Zn^{2+}) والهيماتين(Metheme) والستيرويدات والهرمونات الأخرى والعديد من الأدوية]. السيرولوبلازمين (يحويCu^{2+}، وقد يكون للألبومين أهمية فيزيولوجية أكبر في عملية نقل أيونات النحاس) الجلوبولين الرابط للكورتيكوستيرويدات (الترانسكورتين) (يرتبط الكورتيزول) الهابتوجلوبين (يربط الهيموجلوبين خارج الكريات) البروتينات الشحمية (الدقائق الكيلوسيّة ، VLDL، LDL، HDL) الهيموبيكسين (يربط الهيم) البروتين الرابط للريتينول (يربط الريتينول) الجلوبولين الرابط للهرمونات الجنسية (يربط التستوستيرون والإستراديول) الجلوبولين الرابط للثيروكسين (يربط T_4و T_3) الترانسفيرين (ينقل الحديد) الترانسثيريتين (كان يدعى سلف الألبومين، وهو يربط T_4، ويشكل معقداً مع البروتين الرابط للريتينول)

الجدول 59-2: بعض وظائف البروتينات البلازمية.

1 – تجول العديد من الهرمونات البروتينية الأخرى في الدم، ولكنها لا تعتبر بروتينات بلازمية. وينطبق الحال نفسه على الفرِّيتين الذي يوجد في البلازما بكميات ضئيلة.

يتألف الألبومين البشري الناضج من سلسلة عديدة الببتيد تتكون من 585 حمضاً أمينياً، ويحوي 17 رابطاً ثنائي السلفيد. وباستعمال البروتيازات يمكن تقسيم الألبومين إلى ثلاثة حقول (Domains) لها وظائف مختلفة. ويكون للألبومين شكل إهليلجي، وهذا يعني أنه لا يزيد من لزوجة البلازما كما تفعل الجزيئات المتطاولة مثل مولد الفبرين. وبسبب كتلته الجزيئية المنخفضة نسبياً (نحو 69 ك. دالتون) وتركيزه العالي، فإن الألبومين مسؤول عن 75-80٪ من الضغط التناضحي للبلازما البشرية. وقد أظهرت الدراسات بالرحلان الكهربي نقص الألبومين لدى بعض الأشخاص، ويقال عن هؤلاء بأن لديهم فقد ألبومين الدم (Analbuminemia). وقد يكون أحد أسباب هذه الحالة طفرة تؤثر في التضفير. ويبدي الأشخاص المصابون بفقد ألبومين الدم وذمة خفيفة فقط رغم الحقيقة القائلة بأن الألبومين هو المحدد الأساسي للضغط التناضحي البلازمي. ويعتقد بأن بروتينات البلازما الأخرى تتزايد لتعاوض نقص الألبومين.

هناك وظيفة أخرى للألبومين هي قابليته لربط العديد من اللجائن التي تشمل الأحماض الدهنية الحرة والكالسيوم وبعض الهرمونات السيتيرويدية والبيليروبين وبعض تربتوفان البلازما. وبالإضافة لذلك، يبدو أن الألبومين يلعب دوراً هاماً في نقل النحاس في الجسم البشري (انظر لاحقاً). كما ترتبط العديد من الأدوية (كالسلفوناميدات والبنسلين G والديكومارول والأسبرين) مع الألبومين وأفاد ذلك في العديد من التطبيقات الدوائية الهامة.

تستعمل محضرات الألبومين على نطاق واسع في معالجة الصدمات النزفية والحروق، ولكن تخضع هذه المعالجة للمراجعة لأن بعض الدراسات الحديثة أشارت إلى أن إعطاء الألبومين في هذه الحالات قد يزيد معدلات الوفيات.

الهابتوجلوبين يربط الهيموجلوبين خارج الكريات فيمنعه من دخول الكلية:

الهابتوجلوبين (Hp) هو بروتين سكري بلازمي يربط الهيموجلوبين Hb خارج

الكريات بشكل معقد غير تساهمي ثابت (Hb-Hp) وتتراوح سعة الهابتوجلوبين الرابطة للهيموجلوبين في البلازما البشرية من 40 إلى 180 مجم/100 مل.

يدخل نحو 10٪ من الهيموجلوبين الذي يتدرك يومياً إلى الدوران ليصبح خارج الكريات (Extracorpuscular) أماالـ 90٪ الباقية فتوجد في خلايا الدم الحمراء المتخربة الهرمة، والتي تتدرك بتأثير خلايا الجملة البلعمية. وتبلغ الكتلة الجزيئية للهيموجلوبين نحو 25 ك. دالتون، في حين تبلغ الكتلة الجزيئية لأبسط شكل عديد الأشكال من الهابتوجلوبين (Hp1-1) البشري نحو 90 ك. دالتون، وهكذا يكون للمعقد Hb-Hp كتلة جزيئية تبلغ نحو 155 ك. دالتون. ويمر الهيموجلوبين الحر عبر كبيبات الكلية، ويدخل النبيبات، ويميل إلى الترسب فيها (كما قد يحدث بعد نقل دم غير متلائم وتتجاوز كمية الهيموجلوبين قدرة الهابتوجلوبين على ربطه) (الشكل 59-3). أما المعقد Hb-Hp فيكون كبيراً جداً بحيث لا يستطيع عبور الكبيبات. ويبدو أن وظيفة الهابتوجلوبين هي منع ضياع الهيموجلوبين الحر عبر الكلية، وبذلك يحفظ الحديد الثمين الموجود في الهيموجلوبين وإلا فإن الجسم سيفقده.

يوجد الهابتوجلوبين في ثلاثة أشكال تعرف بالرموز Hp1-1 و Hp2-1 و Hp2-2. ويهاجر الشكل Hp1-1 بالرحلان الكهربي على هلامة النشا بشكل شريط مفرد. في حين يبدي الشكلان Hp2-1 و Hp2-2 أنماطاً شريطية أكثر تعقيداً. ويتحكم بهذه الأنماط الظاهرية الثلاثة جينان يدعيان Hp1 و Hp2، حيث يكون Hp2-1 هو نمط ظاهري متغاير الزيجوت. ولا توجد فوارق وظيفية ملحوظة بين أشكال Hp المتعددة. يختلف مستوى الهابتوجلوبين في البلازما البشرية، وقد يكون له بعض الفائدة التشخيصية. وتلاحظ مستويات منخفضة من الهابتوجلوبين في مرضى فقر الدم الانحلالي، ويفسر هذا بأن العمر النصفي للهابتوجلوبين هو 5 أيام، أما العمر النصفي للمعقد Hb-Hp فهو نحو 90 دقيقة. ويجري نزع المعقد بسرعة من الدوران بواسطة الخلايا الكبدية، وهكذا، فإنه عندما يرتبط الهابتوجلوبين إلى الهيموجلوبين تجري تنقيته من البلازما أسرع بـ 80 مرة من الحالة السوية. وتبعاً لذلك، فإن مستوى الهيموجلوبين يهبط بسرعة في الحالات التي يتحرر فيها الهيموجلوبين

بشكل ثابت من كـريات الدم الحـمـراء، كـمـا يحـصـل في فـقـر الدم الانحــلالي. والهـابتـوجلوبين هـو بروتين طور حـاد، يرتفع مـسـتـواه في البـلازمـا في العـديد من الحالات الالتهابية.

هناك بعض بروتينات البلازما الأخرى تربط الهيم، ولكنها لا تربط الهيموجلوبين. والهيموبكسين (Hemopexin) هو جلوبولين بيتا 1 يربط الهيم الحر. ويمكن أيضاً أن يقوم الألبـومين بربط الهيـماتين (Metheme) (الهيم الحديدي) في الدوران ليشكل الميتـهيمالبومين (methemalbumin) الذي ينقل الهيماتين (Metheme) بعد ذلك إلى الهيموبكسين.

أ- الهيموجلوبين **(Hb)** (وزنه الجزيئي **6500**) ← كلية ← يفرغ في البول أو يترسب في النبيبات

يضيع الحديد من الجسم

ب- الهيموجلوبين **(Hb)** (وزنه الجزيئي **6500**) + الهابتوجلوبين **(Hb)** (وزنه الجزيئى **9000**) ← المعقد ← **Hb:Hp** ← الكلية

(MW 65,000) **(MW 90,000)** **(MW 155,000)**

↓

يتدرك في الكبد

يحتفظ الجسم بالحديد ليستخدمه ثانية

الشكل 3-59: اختلاف مصير الهيموجلوبين الحر عن مصير معقد الهيموجلوبين والهابتوجلوبين.

الترانسفيرين ينقل الحديد إلى المواضع التي تحتاجه:

أ – الترانسفيرين (Transferrin): هو جلوبولين بيتا 1 تبلغ كتلته الجزيئية نحو 80 ك. دالتون. وهو بروتين سكري يخلق في الكبد، وقد وجد أكثر من 20 شكلاً من الأشكال العديدة للترانسفيرين. ويلعب الترانسفيرين دوراً مركزياً في أيض الجسم للحديد لأنه ينقل الحديد (2 جزيئ حديد ثلاثي Fe^{3+} لكل جزيئ من الترانسفيرين) في الدوران إلى المواضع التي تحتاجه (مثلاً من الأمعاء إلى نقي العظام والأعضاء الأخرى). وتنجم أهمية الحديد في جسم الإنسان عن وجوده في العديد من البروتينات الهيمية كالهيموجلوبين والميوجلوبين والسيتوكرومات.

يؤخذ الحديد من الغذاء، ويجري تنظيم امتصاص الحديد الثنائي بصرامة على مستوى المخاطية المعوية. ففي الظروف العادية، يحافظ الجسم بحماس على محتواه من الحديد، فما يفقده الذكر البالغ الصحيح (نحو 1 ملج/اليوم) يعوضه بالامتصاص. وتكون الإناث البالغات أكثر عرضة لحالات عوز الحديد لأنهن يفقدن أحياناً كميات كبيرة من الدم خلال الحيض. ويظهر الجدول كميات الحديد في الترانسفيرين وفي مختلف أحياز الجسم الأخرى.

يجري تقويض نحو 200 بليون كرية حمراء (أي نحو 20 مل) كل يوم مما يحرر نحو 25 ملج من الحديد. وللحديد الحر سميته الفعالة إلا أن ارتباطه مع الترانسفيرين يقلل منها ويوجهه إلى الأماكن التي تحتاجه في الجسم. وهناك مستقبلات للترانسفيرين على سطوح العديد من الخلايا يرتبط بها ليتم إدخاله ضمن الخلية عبر الالتقام المُتواسط بالمستقبلات (قارن مع مصير LDL في الفصل 27). وتسبب الباهاء (pH) الحمضية ضمن اليُحلولات تفارق الحديد عن البروتين. ومع ذلك، وبعكس المحتوى البروتيني للـ LDL، لا يتدرك الأبوترانسفيرين (صميم الترانسفيرين) ضمن اليحلولات ويبقى، بدلاً من ذلك، مرتبطاً مع المستقبل ليعود إلى الغشاء البلازمي فيفترق عن مستقبله ويدخل البلازما ليلتقط الحديد ثانية ويسلمه مرة أخرى إلى الخلايا التي تحتاجه.

ب – مشاكل أيض الحديد: يكتسب أيض الحديد أهمية خاصة لدى النساء للأسباب التي سبق ذكرها، وفي فترة الحمل أيضاً لأهميته لنمو الجنين. وقد يظهر لدى المسنين من ذوي عادات التغذية الفقيرة (شاي وكعك) عوز الحديد. ومن أكثر الحالات شيوعاً في الممارسة الطبية يأتي فقر الدم بعوز الحديد الذي ينجم عن نقص المتناول منه أو عن الخلل في استعماله أو زيادة ضياعه.

يبلغ تركيز الترانسفيرين في البلازما نحو 300 ملج/100 مل. وتستطيع هذه الكمية أن تربط 300 مكج حديد لكل 100 مل لذلك تدعى السعة الكلية الرابطة للحديد TIBC في البلازما. ومع ذلك، يكون ثلث البروتين فقط مشبعاً بالحديد. وفي فقر الدم بعوز الحديد، يكون البروتين أقل إشباعاً بالحديد، أما في حالات تخزين

زيادة من الحديد في الجسم (مثل داء ترسب الأصبغة الدموية (Hemochromatosis)) يكون الإشباع بالحديد أكثر من الثلث.

جـ – الفيريتين (Ferritin): هو بروتين آخر هام في أيض الحديد يقوم بخزن الحديد الذي يمكن استدعاؤه حسب متطلبات الجسم. وفي حالة زيد الحديد (مثل داء ترسب الأصبغة الدموية)، تتزايد مخازن الجسم من الحديد، وبذلك يكون هناك نسبة أكبر من الفيريتين في الأنسجة كالكبد والطحال. وتبلغ نسبة الحديد نحو 23٪ من وزن الفيريتين، ويكون للأبوفيريتين (صميم الفيريتين، وهو الجزء البروتيني الخالي من الحديد) كتلة جزيئية تبلغ نحو 440 ك. دالتون. ويتألف الفيريتين من 24 وحيدة بكتلة جزيئية قدرها 18.5 ك. دالتون لكل منها، وتحيط بنحو 3000 – 4500 ذرة حديدي. ويكون هناك ـ بشكل سوي ـ قليل فقط من الفيريتين في البلازما البشرية. ومع ذلك فإنه في المرضى المصابين بزيد الحديد تكون كمية الفيريتين في البلازما مرتفعة بشكل ملحوظ. ويمكن أن تقاس كمية الفيريتين في البلازما بطريقة مناعية شعاعية حساسة ونوعية تفيد كمشعر لتحديد مخزون الجسم من الحديد.

يتعلق تخليق مستقبلة الترانسفيرين TfR والفيريتين بمحتوى الخلية من الحديد. وتتأثر متواليات نوعية لا تترجم من جزيئات الرنا المرسال (mRNA) لكل من بروتينات (وتدعى عناصر الاستجابة للحديد) مع بروتين في العصارة الخلوية حساس جداً للتغيرات في مستوى الحديد الخلوي (بروتين رابط للعنصر مستجيب للحديد)، فعندما تكون قيم الحديد عالية تستعمل الخلايا مخزونها من الرنا المرسال mRNA للفيريتين لتخليق الفيريتين ويتدرك رنا المستقبل (TfR mRNA) وعلى العكس، عندما تكون مستويات الحديد منخفضة يتثبت TFR mRNA ويزداد تخليق المستقبلات في حين يجري تخزين رنا الفيريتين المرسال بشكل غير فعال. ويشكل هذا مثالاً هاماً للتحكم بالتعبير عن البروتينات على مستوى الترجمة.

الترانسفيرين	4-3 مجم
الهيموجلوبين في الكريات الحمراء	2500 مجم
في الميوجلوبين والإنزيمات المختلفة	300 مجم
في مخازنه (الفيرِّيتين والهيموسيديرين)	1000 مجم
الامتصاص	1 ملج/ اليوم
الفقدان	1 ملج/ اليوم

الجدول 59-3: توزع الحديد لدى ذكر بالغ وزنه 70 كج1.

1 – في الأنثى البالغة التي لها الوزن نفسه ، تكون كمية الحديد في مخازنه أقل بشكل عام (100-400 مجم) ، وتكون الخسارة أكبر (1.5-2 مجم/اليوم).

جـ – الهيموسيديرين: يعد الهيموسيديرين جزيئاً سيء التعريف بعض الشيء، ويبدو كأنه شكل متدرك جزئياً من الفيريتين إلا أنه ما زال يحوي على الحديد. ويمكن كشفه بالملونات النسيجية للحديد (كزرقة بروسيا (Prussian blue))، ويمكن تحديد وجوده نسيجياً عندما تحصل زيادة مخزون الحديد.

د – إن الشكل الأولي من داء ترسب الأصبغة الدموية هو عبارة اضطراب وراثي شائع يتميز بمخزون زائد من الحديد في الأنسجة مما يؤدي إلى تخرب الأنسجة (الحالة رقم 10؛ الفصل 65). أما الشكل الثانوي منه فقد يحدث بعد نقل الدم المتكرر (لعلاج فقر الدم المنجلي مثلاً) أو زيادة تناوله عن طريق الفم (كما في بعض القبائل الأفريقية التي يتناول أفرادُها مشروبات كحولية جرى تخميرها في أوعية مصنوعة من الحديد) أو بعض الحالات الأخرى. ويلخص (الجدول 59-4) الاختبارات المختبرية المفيدة في تقييم المرضى المصابين بشذوذات في أيض الحديد.

يربط السيرولاوبلازمين النحاس وتترافق القيم البلازمية المنخفضة لهذا البروتين مع داء ويلسون:

السيرولوبلازمين (160 ك. دالتون) هو جلوبولين ألفا2 ذو لون أزرق بسبب محتواه العالي من النحاس، ويحمل نحو 90٪ من نحاس البلازما. ويربط كل جزيء سيرولوبلازمين ست ذرات من النحاس ربطاً محكماً، لذلك يصعب تخليه عنها. ويحمل الألبومين نسبة 10٪ الباقية من النحاس، ولكنه يربطه بشكل أقل ثباتاً من ارتباطه بالسيرولوبلازمين. وهكذا، يتخلى الألبومين عن النحاس للأنسجة بسرعة أكبر مما يفعل السيرولوبلازمين، ويبدو أنه أكثر أهمية من السيرولوبلازمين في نقل النحاس في الجسم البشري. ويبدي السيرولوبلازمين نشاط أكسيداز معتمد على النحاس، ولكن دلالته الفيزيولوجية لم تتضح بعد، وتتناقص كمية السيرولوبلازمين في البلازما في الأمراض الكبدية وخاصة في داء ويلسون (Wilson’s Disease) (النكس الكبدي العدسي)، وهو مرض ينجم عن الأيض الشاذ للنحاس. ولتوضيح وصف داء ويلسون علينا أن نتفهم أولاً أيض النحاس في الجسم البشري وداء مينكيس (Menkes)، وهي حالة أخرى لأيض النحاس الشاذ.

يلعب النحاس دور التميم العامل لبعض الإنزيمات:

النحاس هو أحد العناصر النادرة الضرورية، ويجب تناوله مع الغذاء لأنه يمثل التميم العامل الفلزّي للعديد من الإنزيمات (انظر الجدول 59-5). ويتقبل النحاس الإلكترونات ويمنحها ويساهم في تفاعلات التطافر (Dismutation) (وهو تفاعل بين جزيئين يكسب أحدهما ما يخسره الآخر) والهدركسلة والأكسجة، ومع ذلك، فإن زيد النحاس قد يسبب الاضطرابات لأنه يستطيع أكسدة البروتينات والشحميات والارتباط بالأحماض النووية وتسريع إنتاج الجذور الحرة. ولذلك فإن من الأهمية بمكان أن تكون هناك آليات تحافظ على كمية النحاس في الجسم ضمن الحدود السوية.

ويحوي جسم البالغ السوي نحو 100 مجم نحاس تتوضع بشكل رئيسي في العظام والكبد والكليتين والعضلات. ويعادل مدخول النحاس اليومي نحو 2-4 مجم

يُمْتَص منه نحو 50٪ في المعدة والأمعاء الدقيقة العلوية ويفرغ الباقي في البراز. ويحمل النحاس إلى الكبد بشكل مرتبط مع الألبومين ثم تأخذه خلايا الكبد ويفرغ بعض منه إلى الصفراء، كما يترك النحاس الكبد بشكله المرتبط مع السيرولوبلازمين الذي يخلق في الكبد أيضاً.

* عد كريات الدم الحمراء وقياس الهيموجلوبين.
* معايرة حديد البلازما والسعة الكلية الرابطة للحديد (TIBC) وإشباع الترانسفيرين المئوي.
* معايرة فيريتين البلازما بالمقايسة المناعية الشعاعية (RIA).
* تلوين المقاطع النسيجية بزرقة بروسيا.
* معايرة كمية الحديد في خزعة نسيجية (مكج/ ج).

الجدول 59-4: الفحوص المختبرية المستخدمة لتقويم حالة مرضى اضطرابات أيض الحديد

* أكسيداز الأمين.
* ديسموتاز فوق الأكسيد المعتمدة على النحاس.
* أكسيداز السيتوكروم.
* التيروزيناز.

الجدول 59-5: بعض الإنزيمات الهامة المحتوية على النحاس.

تنظم الميتالوثيونينات جزئياً محتوى الأنسجة من النحاس وبعض الفلزات الأخرى:

الميتالوثيونينات (Metallothioneins) هي مجموعة من البروتينات الصغيرة (نحو 6.5 ك. دالتون) موجودة في عصارة الخلايا (بشكل خاص في الكبد والكلية

والأمعاء) وفيها محتوى عال من السيستين وتستطيع أن تربط النحاس والزنك والكادميوم والزئبق. وتساهم مجموعات السيستين السلفهيدريلية (SH) في ربط الفلزات. ويزيد المَدخول الحاد من النحاس (بالحقن مثلاً)، أو من بعض الفلزات الأخرى، من كمية هذه البروتينات في الأنسجة (تحريض)، كما يحصل ذلك عند إعطاء بعض الهرمونات أو السيتوكينات. وقد تكون وظيفة هذه البروتينات هي خزن الفلزات السابقة بشكل غير سمي والمساهمة في كامل أيضها في الجسم. ويقلل احتجاز النحاس (توشيظه (Sequestration)) أيضاً من كميته القادرة على تَخليق الجذور الحرة.

ينجم داء مينكيس عن طفرات في الجين المرمز للأتباز الرابطة للنحاس من النمط P:

داء مينكيس (داء الشعر الملتوي أو الفولاذي) هو اضطراب في أيض النحاس، مرتبط بالجنس، يصيب الأطفال الذكور ويشمل بتأثيره الجملة العصبية والأنسجة الضامة والجملة الوعائية، وغالباً ما يكون مميتاً في الطفولة (انظر أيضاً الفصل57). وقد لوحظت حالة مماثلة في أستراليا لدى أغنام نشأت على حمية خالية من النحاس. ولوحظ أن شعر المصابين بداء مينكيس يكون مشابهاً للصوف غير السوي لهذه الحيوانات، وقد أدى ذلك إلى الافتراض بأن يكون داء مينكيس ناجماً عن شذوذ في أيض النحاس. وقد نشر في العام 1993 أن أساس الإصابة بمرض مينكيس هو طفرة في جين الأتباز (ATPase) الرابط للنحاس من النمط P. ومما يلفت الانتباه أن هذا الإنزيم يبدي بنية مشابهة لبعض البروتينات الرابطة للفِلِزّات في الأحياء المجهرية، ويعتقد أن هذا الأتباز (ATPase) هو المسؤول عن توجيه دفق النحاس إلى خارج الخلايا، وعند تغيره بطفرة ما، لا يتحرك النحاس بشكل سوي من الأمعاء ـ التي يتراكم فيها ـ كما يفعل في مختلف الخلايا والأنسجة الأخرى، والتي لا يستطيع أن يخرج منها. ورغم تراكم النحاس، فإن

نشاط العديد من الإنزيمات المعتمدة على النحاس يتناقص. وقد يكون ذلك بسبب عيب في اندماج النحاس في صمائم الإنزيمات (Apoenzymes). ويعبر الكبد السوي عن القليل جداً من هذا الأتباز (ATPase)، وهذا يفسر غياب الإصابة الكبدية في داء مينكيس. وهذا ما قاد إلى اقتراح أن الكبد قد يحوي أتباز (ATPase) آخر رابط للنحاس، ويمكن أن يساهم في إحداث داء ويلسون، وقد ثبتت صحة ذلك كما سنشرح لاحقاً. ويقارن (الجدول 59-6) الفروق الهامة بين داء مينكيس وداء ويلسون.

ينجم داء ويلسون أيضاً عن طفرة في الجين المرمز لإنزيم الأتباز (ATPase) الرابط للنحاس من النمط P:

داء ويلسون هو مرض وراثي يعجز فيه الكبد عن إفراغ النحاس في الصفراء فيتراكم في الكبد والدماغ والكليتين والكريات الحمراء. ويمكن أن يعبر عنه بأنه عدم القدرة على الحفاظ على توازن النحاس قريباً من الصفر مما يؤدي إلى الانسمام بالنحاس. ويبدو أن زيد نحاس الخلايا الكبدية يثبط ربط النحاس بالأبوسيرولوبلازمين، ويؤدي إلى مستويات منخفضة من السيرولوبلازمين في البلازما. ومع تراكم النحاس، قد يظهر لدى المريض فقر دم انحلالي ومرض كبدي مزمن (التشمع، التهاب الكبد) ومتلازمة عصبية نتيجة تراكم النحاس في العقد القاعدية ومراكز أخرى. ويكون العرض الإكلينيكي الأكثر ملاحظة هو حلقة كايزر ـ فليشر (Kayser-Fleischer ring). وهي حلقة صباغية خضراء أو ذهبية تحيط بالحدقة ناجمة عن ترسب النحاس في غشاء ديسيميه (Descemet’s membrane). وقد أدرجت اختبارات تقويم أيض النحاس المختبرية الأساسية في (الجدول 59-7). وإذا كان هناك شك بداء ويلسون يجب إجراء خزعة كبدية فإذا كانت قيمة نحاس الكبد أكثر من 250 مكج / ج من الوزن الجاف، وكان مستوى السيروبلازمين في المصل تحت 20 مجم / 100 مل يكون ذلك تشخيصاً للإصابة.

	داء مينكيس (MIM 309400)	**داء ويلسون (MIM 277900)**
توضع الجين	13.3 Xq	13q14.3
الوراثة	مرتبط بالكروموسوم X ومتنح	جسدي متنح
الناتج الجيني	الأتباز (ATPase) الرابط للنحاس من النمط P	الأتباز (ATPase) الرابط للنحاس من النمط P
التعبير	في جميع الأنسجة عدا الكبد	الكبد والكلية والمشيمة
الطفرات	مختلفة	مختلفة
البداية	عند الولادة	في الطفولة المتأخرة
الموجودات السريرية	تنكس دماغي، شعر شاذ، علامات أخرى، موت مبكر	داء كبدي، علامات عصبية، وقد يعيش المصاب حتى الكهولة المتأخرة
الموجودات المختبرية	نقص أيونات نحاس المصل نقص سيرولوبلازمين المصل زيادة أيونات نحاس الأمعاء والكلية نقص نحاس الكبد	نقص أيونات نحاس المصل نقص سيرولوبلازمين المصل زيادة أيونات نحاس البول زيادةُ أيونات نحاس الكبد
الخلايا المزروعة	تراكم أيونات النحاس Cu^{2+} نقص إطلاق النحاس Cu^{2+}	سوية في معظم المرضى
العيب	امتصاص أيونات النحاس من الأمعاء، عوز الإنزيمات المعتمدة على النحاس	إفراغ أيونات النحاس في الصفراء، اندماج النحاس في السيرولوبلازمين
المعالجة	لا توجد معالجة فعالة	البنسيلامين

الجدول 59-6: مقارنة بين داء مينكيس وداء ويلسون.

وقد كشف سبب داء ويلسون عام 1993 أيضاً. فبعد كشف الجين المسبب لداء مينكيس وجد أن هناك العديد من الطفرات في الجين المرمز لإنزيم الأتباز (ATPase) الرابط للنحاس من النمط P كانت مسؤولة عن هذه الإصابة. وقد عرفنا أن هذا الجين يرمز بروتيناً مؤلفاً من 1411 حمضاً أمينياً متماثلاً بشكل كبير مع ناتج جين مينكيس. وبطريقة ليست مفسرة تماماً يسبب الأتباز (ATPase) غير الوظيفي إفراغاً معيباً للنحاس ضمن الصفراء وتناقصاً في اندماج النحاس بالأبوسيرولوبلازمين وتراكم النحاس في الكبد، ومن ثم في أعضاء أخرى كالدماغ.

تتضمن معالجة داء ويلسون حمية فقيرة بالنحاس مع الإعطاء الدائم للبنسيلامين (Penicillamine) الذي يخلب النحاس ويفرغ عن طريق البول وبذلك يخلص الجسم من زيد هذا الفلز.

الاختبار	المجال السوي لدى البالغين
نحاس المصل	10-22 مكرومول / ل
السيرولوبلازمين	200-600 مجم / ل
النحاس البولي	أقل من 1 مكرومول / بول 24 ساعة
نحاس الكبد	20-50 مكروجرام / ج من الوزن الجاف

الجدول 59-7: الاختبارات المختبرية المستعملة في تحري أمراض أيض النحاس.

يترافق عوز مضاد البروتيناز ألفا 1 (مضاد التريبسين ألفا 1) مع النفاخ الرئوي وأحد أمراض الكبد:

كان يدعى مضاد البروتيناز ألفا1 (نحو 52 ك. دالتون) سابقاً باسم مضاد التريبسين ألفا1، وقد احتفظنا بالاسمين هنا. وهو بروتين وحيد السلسلة يتألف من 394 حمضاً أمينياً، ويحتوي على ثلاث سلاسل قليلة السكريد، وهو المكون

الرئيسي (أكثر من 90٪) في الجزء ألفا1 للبلازما البشرية وتخلقه الخلايا الكبدية والبلاعم، وهو المثبط الأساسي لبروتياز السيرين (السيربين (Serpin) أو Pi) في البلازما البشرية، فهو يثبط التريبسين والإيلاستاز وبعض البروتيازات الأخرى بتشكيله معقدات معها. ويوجد من هذا البروتين نحو 75 شكلاً على الأقل يمكن فصلها بالرحلان الكهربي. ويكون النمط الوراثي الرئيسي هو MM، وناتجه النمطي الظاهري هو PiM. وهناك ناحيتان لهما دلالة سريرية تتعلقان بمضاد التريبسين ألفا$_1$. يلعب عوز هذا البروتين دوراً في بعض حالات (نحو 5٪) النفاخ الرئوي (Emphysema)، ويحصل ذلك بشكل رئيسي في الأشخاص من ذوي النمط الوراثي ZZ (الذين يخلقون PiZ) وفي متغايري الزيجوت (PiSZ) أيضاً، حيث يفرز كلاهما بروتيناً أقل بشكل ملحوظ من الأفراد من النمط PiMM. وبالمقارنة، يكون إفراز هذا البروتين أقل بوضوح مما في النمط PiM. وعندما تنقص كمية مضاد التريبسين ألفا$_1$ وتزداد الكريات البيضاءس عديدة النوى في الرئة (التهاب الرئة مثلاً)، يصبح المُصاب غير قادر على منع التّخرب الحال للبروتين الذي يصيب الرئة بسبب عمل البروتيازات (الإيلاستاز مثلاً) (الشكل 59-4). ومن المثير للانتباه أن ثمالة الميثيونين (الثمالة 358) لمضاد التريبسين ألفا$_1$ تساهم في ربطه للبروتيازات. ويعمل التدخين على أكسدة هذا الميثيونين إلى سلفوكسيد الميثيونين فيُعطّله. وبالنتيجة، فإن الجزيئات المتأثرة من مضاد التريبسين ألفا$_1$ لا تستطيع أن تعدل البروتيازات، ويكون ذلك مخرباً بشكل خاص لدى المرضى (مثل النمط الظاهري PiZZ) ممن لديهم أصلاً مستويات منخفضة من مضاد التريبسين ألفا$_1$. ويؤدي الانخفاض الإضافي لمضاد التريبسين ألفا$_1$ الذي يحصل نتيجة التدخين إلى زيادة في التخرب الحال للبروتين في أنسجة الرئة، مما يسرع من حصول النفاخ الرئوي. وقد استعمل زرق مضاد التريبسين ألفا$_1$ وريدياً (معالجة تعويضية) كمساعدة في معالجة مرضى النفاخ الرئوي الناجم عن عوز مضاد التريبسين ألفا$_1$. وقد أجريت محاولات اعتمدت على طرائق هندسة البروتين (الفصل 2-4) لاستبدال المثيونين 358 بثمالة أخرى لا تكون عرضة للأكسدة، ومن ثم، فإن مضاد التريبسين ألفا$_1$ الناتج يؤمن حماية ضد البروتيازات لفترة من الزمن أطول مما يقدمها مضاد التريبسين ألفا$_1$ الموجود أصلاً. كما أجريت محاولات أخرى لتطوير المعالجة الجينية لهذه

الحالة. وتعتمد إحدى الطرائق على استعمال الڤيروس الغدي المعدل (وهو عامل ممرض للسبيل التنفسي) بحيث يجري غرز جين مضاد التريبسين ألفا$_1$ فيه ثم يمكن إدخال الڤيروس إلى الطريق التنفسي (عبر مرذاذ مثلاً). ويكون الأمل بأن تقوم الخلايا الظهارية الرئوية بالتعبير عن الجين وتفرز مضاد التريبسين ألفا$_1$ موضعياً. وقد أظهرت النتائج التي أجريت على الحيوانات إمكانية تطبيق هذه الطريقة.

ويظهر عوز مضاد التريبسين ألفا$_1$ أيضاً في أحد أنماط الأمراض الكبدية (مرض الكبد بعوز مضاد التريبسين ألفا$_1$). وفي هذه الحالة، تتراكم جزيئات النمط الظاهري ZZ وتتكدس في صهاريج الشبكة الهيولية البطانية للخلايا الكبدية. وقد أظهرت بعض النتائج حديثاً بأن التكدس ناجم عن تشكل بلمرات لمضاد التريبسين ألفا$_1$ الطافر. وتتشكل هذه الأخيرة نتيجة تآثر قوي بين عروة نوعية في جزيء والصفائح المتطوية من النمط بيتا في جزيء آخر (بلمرة العروة ـ الصفيحة)، ومن ثم التشمع (تراكم كميات كبيرة من الكولاجين تؤدي إلى التليف) الكبدي. ويحتمل أن يؤدي إعطاء ببتيد مخلق مشابه لتسلسل العروة إلى تثبيط بلمرة العروة ـ الصفيحة. وحالياً، يمكن معالجة المرض الكبدي بعوز مضاد التريبسين ألفا$_1$ بنجاح بواسطة غرس الكبد. وفي المستقبل، قد يكون إدخال جين مضاد التريبسين ألفا$_1$ ضمن الخلايا الكبدية ممكناً. ويمثل (الشكل 59-5) مخططاً لأسباب هذا المرض.

أ ـ الإيلاستاز الفعالة + α_1-**AT** ← المعقد غير الفعال «الإيلاستاز»: α_1**AT** ← عدم حصول الحل البروتيني← عدم حصول التخرب النسيجي

ب ـ الإيلاستاز الفعالة + نقص α_1**AT** أو غيابه ← تبقى الإيلاستاز فعالة ← الحل البروتيني للرئة ← تخرب الأنسجة

الشكل 59-4: مخطط يوضح (أ) التعطيل السوي للإيلاستاز بواسطة مضاد التريبسين ألفا1؛ (ب) والحالة التي يكون فيها مضاد التريبسين ألفا 1 ناقصاً بشكل كبير مما يؤدي إلى حصول الحل البروتيني بواسطة الإيلاستاز ومن ثم يؤدي إلى أذية الأنسجة.



الشكل 59-5: كيفية تسبب عوز مضاد التريبسين ألفا$_1$ للداء الكبدي؛ تسبب الطفرة المذكورة تشكيل PiZZ (MIM 107400).

الجلوبولين الكبروي ألفا$_2$ يعدل العديد من البروتيازات ويوجه بعض السيتوكينات إلى الأنسجة:

الجلوبولين الكبروي ألفا2 هو بروتين سكري بلازمي كبير (720 ك. دالتون) يتألف من أربع وحيدات متماثلة يزن كلا منها 180 ك. دالتون. ويمثل نحو 8-10 ٪ من كامل بروتين البلازما لدى البشر. وينقل نحو 10 ٪ من الزنك في البلازما (الباقي ينقله الألبومين). ويخلق هذا البروتين في مجموعة مختلفة من أنماط الخلايا بما فيها الوحيدات والخلايا الكبدية والخلايا النجمية (Astrocytes). وهو العضو الرئيسي في مجموعة بروتينات البلازما التي تضم بروتيني المتممة C_3 و C_4. وتحوي هذه البروتينات رابطاً إستريا كبريتياً حلقياً داخلياً وحيداً (يتشكل بين ثمالتي السستين والجلوتامين)، ولهذا السبب دعيت فصيلة البروتينات البلازمية الإسترية الثيولية.

يربط الجلوبولين الكبروي ألفا$_2$ العديد من البروتينازات، وهكذا يمكن اعتباره مثبطاً هاماً لها. ويجري التخلص من معقدات الجلوبولين الكبروي ألفا$_2$ ـ بروتيناز بسرعة من البلازما بوساطة مستقبل نوعي يتوضع على العديد من الأنماط الخلوية. وبالإضافة لذلك، فإن الجلوبولين الكبروي ألفا$_2$ يربط العديد من السيتوكينات (مثل عامل النمو المشتق من الصفيحَات وعامل النمو المحول بيتا،... إلخ)، ويبدو أنه يساهم في توجيهها نحو أنسجة أو خلايا معينة. وعند أخذها من قبل الخلايا، تتفارق السيتوكينات عن الجلوبولين الكبروي ألفا$_2$ لتُبدي مجموعة من التأثيرات في نمو الخلية ووظيفتها. ويساهم ارتباط البروتينازات والسيتوكينات بالجلوبولين الكبروي ألفا$_2$ في آليات مختلفة، لن ندخل في تفاصيلها هنا.

يحصل الداء النشواني بترسب أجزاء من بروتينات البلازما المختلفة في الأنسجة:

الداء النشواني (Amyloidosis) هو تراكم بروتينات ليفية مختلفة غير منحلة بين خلايا الأنسجة إلى حد تؤثر فيه على الوظيفة العضوية. وتمثل اللييفات شدف تحلل البروتين من بروتينات بلازمية، ولها بنية صفيحية متطوية بيتا. وتعبير «الداء النشواني» تسمية خاطئة نشأت عن الظن بأن اللييفات تشابه النشا في طبيعتها. ومن بين أكثر طلائع البروتينات شيوعاً تبرز السلاسل الخفيفة للجلوبولينات المناعية (انظر لاحقاً) والبروتين المرافق للأميلويد المشتق من البروتين المرافق للأميلويد المصلي (بروتين سكري بلازمي) والترانسثيريتين (Transthyretin) (الجدول 59-2). وتكون طلائع البروتينات هذه في البلازما بوجه عام إما مزدادة الكمية (كما في السلاسل الخفيفة للجلوبولينات المناعية في الورم النقوي العديد أو الجلوبولين الكبروي بيتا$_2$ في مرضى الديال المزمن)، أو تكون أشكالاً طافرة (مثل الترانسثيريتين في الاعتلال العصبي النشواني العائلي). وما زالت العوامل الدقيقة التي تحدد ترسب شدف تحلل البروتين في الأنسجة تحتاج إلى توضيح. وقد وجدت بروتينات أخرى في اللييفات النشوانية مثل الكالسيتونين وبروتين الأميلويد بيتا (غير مشتقة من بروتين بلازمي) في مرض ألزهايمر (الفصل 64). كما وجد نحو 15 بروتيناً مختلفاً. وتحوي جميع اللييفات المكون P مترافقاً معها، وهو مشتق من

مكون الأميلويد P المصلي، وهو بروتين شبيه جداً بالبروتين المتفاعل C. وتتفاعل المقاطع النسيجية المحتوية على لييفات الأميلويد مع ملون أحمر الكونغو وتعطي تألقاً أخضر واضحاً عندما تتعرض للمجهر المستقطب. ويترسب الأميلويد في المرضى المصابين باضطرابات متنوعة تجب معالجتها عندما يكون ذلك ممكنا.

تلعب الجلوبولينات المناعية البلازمية دوراً أساسياً في آليات الدفاع عن الجسم:

تتألف الجملة المناعية للجسم من مكونين أساسيين: اللمفاويات البائية واللمفاويات التائية. وتشتق الأولى بشكل رئيسي من خلايا نقي العظم في الحيوانات العليا ومن جريب فابريشيوس (Fabricius) في الطيور. أما اللمفاويات التائية فلها منشأ سعتري (توتي: Thymus).

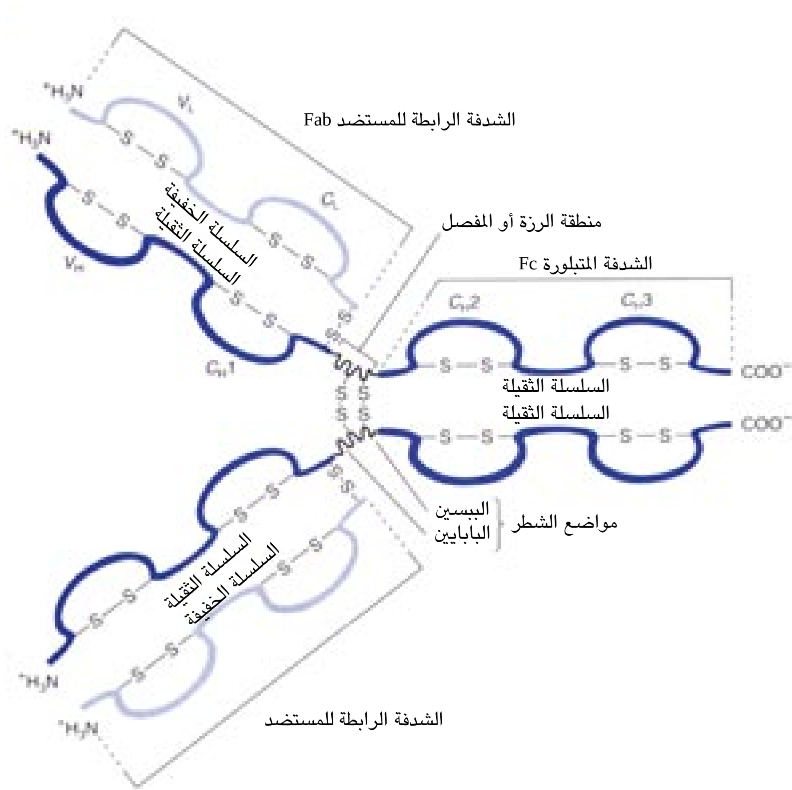
الخلايا البائية (B cells) هي المسؤولة عن تخليق الأضداد الخلطية الجوالة (Circulating humoral antibodies) التي تعرف أيضاً باسم الجلوبولينات المناعية. وللخلايا التائية (T cells) دور في العديد من العمليات المناعية الهامة التي تتوسطها الخلايا كرفض الطعم وتفاعلات فرط الحساسية والدفاع ضد الخلايا السرطانية والعديد من الفيروسات. وسنتكلم في هذا الجزء عن الجلوبولينات المناعية البلازمية التي تخلقها الخلايا البلازمية (Plasma cells) بشكل أساسي، وهي الخلايا المتخصصة من سلالة الخلايا البائية التي تخلق الجلوبولينات المناعية كاستجابة للتعرض لمختلف أنواع المستضدات (Antigens) وتفرزها في البلازما.

تحوي جميع الجلوبولينات المناعية سلسلتين خفيفتين وسلسلتين ثقيلتين على الأقل:

تتألف جميع جزيئات الجلوبولينات المناعية من سلسلتين خفيفتين (L) متماثلتين (23 ك. دالتون) وسلسلتين ثقيلتين (H) متماثلتين (53-75 ك. دالتون) ترتبطان معاً بروابط ثنائية السلفيد لتشكلا مربوعاً (L2H2) ويظهر (الشكل 59-6) بنية

الجلوبولين المناعي IgG، وهو بشكل الحرف Y يربط المستضد عند ذروتي Y. ويمكن تقسيم كل سلسلة نظرياً إلى حقول أو مناطق نوعية بنيوياً ووظيفياً. ويدعى نصف السلسلة الخفيفة في النهاية الكربوكسيلية بالمنطقة الثابتة (C_L) في حين أن نصفها من جهة النهاية الأمينية هو المنطقة المتغيرة (V_L). ويدعى ربع السلسلة الثقيلة (تقريباً) من جهة النهاية الأمينية بالمنطقة المتغيرة لهذه السلسلة (V_H) وتدعى ثلاثة أرباع السلسلة الثقيلة الباقية بالمناطق الثابتة لهذه السلسلة (C_H1 , C_H2 , C_H3) ويتشكل الجزء الذي يربط جزيء الجلوبولين المناعي إلى المستضدات النوعية من الأجزاء الواقعة عند النهايات الأمينية (المناطق المتغيرة) لكل من السلسلتين H و L، أي الحقول V_Hو V_L. وتتألف حقول السلاسل البروتينية من استطالتين متميزتين من الصفائح عكسية التوازي تشكلها الأحماض الأمينية القادرة على ربط المستضدات نوعياً.

وكما هو موضح في (الشكل 59-6)، فإن هضم الجلوبولين المناعي بإنزيم البابايين (Papain) يعطي شدفتين رابطتين للمستضدات (Fab) وشدفة واحدة متبلورة (Fc). والأخيرة هي المسؤولة عن كل وظائف الجلوبولينات المناعية عدا الارتباط المباشر بالمستضدات. وبما أن هناك منطقتين من النمط Fab، لذلك تربط الجزيئات IgG جزيئين من المستضد وتدعى ثنائية التكافؤ. ويدعى الموضع على المستضد والذي يرتبط به الضد باسم المحددة المستضدية أو الحاتمة (Epitope). وأما المنطقة التي يشطر فيها البابايين جزيء الجلوبولين المناعي، أي المنطقة بين موقعي C_H1 و C_H2، فتدعى «منطقة الرزة أو المفصل» (Hinge region)، وهي تمنح المرونة للجزيء، وتسمح لكلا ذراعي Fab بالتحرك بشكل مستقل فتساعدهما على الارتباط بالمواضع المستضدية التي يمكن أن تكون على مسافات مختلفة (على السطوح الجرثومية مثلاً). وتختلف المناطق المتبلورة والرزية (المفصلية) في مختلف أصناف الأضداد لكن النموذج العام لبنية الضد في كل الأصناف هو نفسه المبين في (الشكل 59-6) بالنسبة للجزيء IgG.



الشكل 59-6 : شكل مبسط لبنية جزيء الضد IgG. تظهر البنية الأساسية رباعية السلاسل مكونة من سلسلتين خفيفتين (L) وسلسلتين ثقيلتين (H). وتتألف كل سلسلة خفيفة من منطقة متغيرة (V_L) وأخرى ثابتة (C_L) بينما تتألف كل سلسلة ثقيلة من منطقة متغيرة (V_H) وأخرى ثابتة (C_H) تنقسم إلى ثلاثة حقول (C_H1و C_H2 و C_H3). ويحتوي C_H2على موضع رابط للمتممة و C_H3 على موضع يرتبط بالمستقبلات على العدلات والبلاعم. ويتشكل الموضع الرابط للمستضد من المناطق مفرطة التغير في كل من السلاسل الخفيفة والثقيلة المتوضعة في المناطق المتغيرة لهذه السلاسل (انظر الشكل 59-7) . وترتبط السلاسل الخفيفة والثقيلة بروابط ثنائية السلفيد، وكذلك ترتبط السلاسل الثقيلة بروابط ثنائية السلفيد أيضاً.

تكون جميع السلاسل الخفيفة إما من النمط كابا أو لمدا:

هناك نمطان من السلاسل الخفيفة (كابا (κ) (kappa) ولمدا (λ) (lambda)) يمكن تمييزهما استناداً للاختلاف البنيوي في المناطق CL. ويحوي كل جزيء جلوبولين مناعي دائماً سلسلتين خفيفتين κ أو سلسلتين خفيفتين λ، ولا يمكن أن تحوي مزيجاً منهما إطلاقاً. ويغلب وجود النوع كابا في جزيئات الجلوبولينات المناعية لدى البشر.

تحدد الأنماط الخمسة للسلاسل الثقيلة صنف الجلوبولين المناعي:

يوجد خمسة أصناف للسلسلة H لدى البشر (الجدول 59-8) يمكن تمييزها بالاختلاف في المناطق C_H، وتُدعى بالسلاسل جاما (γ) وألفا(α) وميو (μ) ودلتا (δ) وإيبسيلون (ε). ويكون للسلسلتين الأخيرتين أربعة حقول CH، وليس ثلاثة كما هو معتاد. ويحدد نمط السلسلة Hصنف الجلوبولين المناعي ومن ثم وظيفته. وهناك خمسة أصناف للجلوبولينات المناعية: IgG و IgA و IgM و IgD و IgE يلخص (الجدول 59-9) وظائفها البيولوجية.

لا توجد منطقتان متغيرتان متماثلتان:

تتألف المناطق المتغيرة لجزيئات الجلوبولينات المناعية من الحقلين VL و VH، وهي متغايرة تماماً. وفي الواقع لا توجد منطقتان متغيرتان من أشخاص مختلفين متماثلتان في تسلسل أحماضهما الأمينية. ومع ذلك فقد أظهر تحليل الأحماض الأمينية أن المناطق المتغيرة تتكون من مناطق غير متغيرة نسبياً وأخرى مفرطة التغير (Hypervariable Regions) (الشكل 59-7). ويكون للسلاسل L ثلاث مناطق مفرطة التغير (في V_L) وللسلاسل H أربع مناطق (في V_H). وتشكل هذه المناطق مفرطة التغير موضع ارتباط المستضد (المتوضع عند ذروتي Y المبين في (الشكل 59-6)، وتعطي النوعية المذهلة للأضداد. ولهذا السبب تدعى المناطق مفرطة التغير

الخاصية	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
النسبة المئوية من إجمالي الجلوبولينات المناعية في المصل (تقريباً)	75	15	9	0.2	0.004
التركيز المصلي(مجم/100 مل) (تقريبي)	1000	200	120	3	0.05
معامل التثفل	7S	7S[1] أو 11S	19S	7S	8S
الوزن الجزيئي (× 1000)	150	170 أو 400[1]	900	180	190
البنية	موحود	موحود أو مثنوي	موحود أو مثنوي	موحود	موحود
رمز السلسلة الثقيلة	γ	α	μ	δ	ε
تثبيت المتممة	+	-	+	-	-
عبور المشيمة	+	-	-	؟	-
توسط الاستجابات الأرجية	-	-	-	-	+
الوجود في المفرزات	-	+	-	-	-
الطهاية (Opsonization)	+	-	2-	-	-
مستقبل المستضد على الخلية البائية	-	-	+	؟	-
يحتوي البلمر على السلسلة J	-	+	+	-	-

الجدول 59-8: خصائص سلاسل الجلوبولينات المناعية البشرية.

1 يوجد الشكل 11 في المفرزات (مثل اللعاب والحليب والدمع) وسوائل السبل التنفسية والمعوية والتناسلية.

2 يقوم IgM بشكل غير مباشر بالطهاية وذلك عن طريق تفعيل المتممة وهذا ما ينتج C3b، وهي مادة طاهية (أي المادة التي ترتبط بالمستضد وتهيئه للبلعمة).

أيضــاً باسم مناطق تعــيين التــتــام (Complementarity-Determining Regions (CDRs;. ويساهم نحو 5-10 أحماض أمينية في كل منطقة مفرطة التغير (CDR) في الموضع الرابط للمستضد. وتتوضع هذه المناطق على عرى صغيرة من الحقول المتغيرة، وبذلك تدعى المناطق عديدة الببتيد الواقعة بين المناطق مفرطة التغير باسم مناطق إطار العمل. وتتشكل المناطق مفرطة التغير من كل من V_Hو V_L، والتي تتقارب بتطوي سلاسل عديد الببتيد التي تحتويها، تشكل سطحاً مفرداً مفرط التغير يؤلف موضع ارتباط المستضد. ويمكن أن تعطي التوليفات المختلفة للمناطق مفرطة التغير من السلاسل الثقيلة والخفيفة الكثير من الأضداد ذات النوعيات المختلفة، ويساهم ذلك في التنوع الهائل للجزيئات الضدية الذي يدعى التنوع التشاركي أو التوليفي. وتتآثر الأضداد الكبيرة مع كافة مناطق CDR في الضد في حين يمكن أن تتآثر اللجائن الصغيرة مع منطقة واحدة أو بضع مناطق مفرطة التغير تشكل جيباً أو ميزابة في الجزيء الضدي. ويكون جوهر التآثرات الضدية المستضدية هو التتام المتبادل بين سطوح CDRs والحواتم. وتشمل التآثرات بين الأضداد والمستضدات قوى وروابط غير تساهمية (قوى كهربائية سكونية وقوى فان دير ڤالس وروابط هيدروجينية وروابط كارهة للماء).

تحدد المناطق الثابتة الوظائف المستفعلة النوعية للصنف:

تكون المناطق الثابتة لجزيء الجلوبولين المناعي، خاصة C_H2و C_H3 و (C_H4 من IgM و IgE)، والتي تشكل الجزء Fc، مسؤولة عن الوظائف المستفعلة النوعية للصنف (مثل تثبيت المتممة أو عبور المشيمة) في مختلف جزيئات الجلوبولينات المناعية (الجدول 59-8، الجزء السفلي).

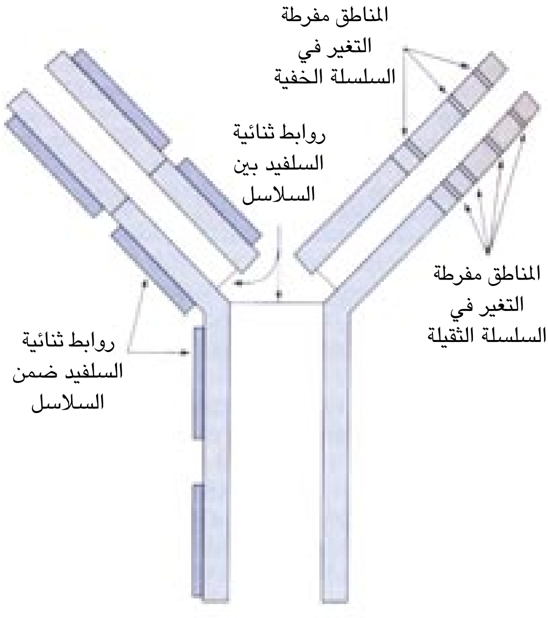
توجد بعض الجلوبولينات المناعية، (مثل IgG المناعي)، في بنية أساسية مربوعة فقط، في حين يمكن أن توجد غيرها ـ مثل IgM و IgA ـ بشكل بلمرات من رتبة أعلى بحيث تتكون من مربوعين أو ثلاث (IgA) أو خمس (IgM) (الشكل 59-8).

يجري تخليق السلاسل L والسلاسل H كجزيئات منفصلة ثم تجتمع فيما بعد

ضمن الخلايا البائية أو الخلايا البلازمية لتشكل جزيئات جلوبولين مناعي ناضجة، وجميعها بروتينات سكرية (الجدول 59-8).

الصنف	الوظائف الرئيسية
IgG	الضد الرئيسي في الاستجابة الثانوية؛ يستطهي (Opsonize) الجراثيم فيجعل بلعمتها أسهل؛ يثبت المتممة مما يسرع قتل الجراثيم؛ يعدل ذيفانات الجراثيم والڤيروسات؛ يعبر المشيمة.
IgA	يمنع شكله الإفرازي ارتباط الجراثيم والڤيروسات بالغشاء المخاطي؛ لا يثبت المتممة.
IgM	الضد الرئيسي في الاستجابة الأولية تجاه المستضد؛ يثبت المتممة؛ لا يعبر المشيمة؛ مستقبل المستضد على سطح الخلايا البائية.
IgD	غير معروفة؛ يوجد على سطح العديد من الخلايا البائية، وكذلك في البلازما.
IgE	يتواسط فرط الحساسية الآني عند التعرض لمستضد (مستأرج)، وذلك عن طريق إطلاق الوسائط من الخلايا البدينة (Mast) والأسسات؛ الدفاع ضد عداوى الديدان بإطلاق إنزيمات الخلايا اليوزينية؛ لا يثبت المتممة؛ الدفاع الرئيسي للمضيف ضد عداوى الديدان.

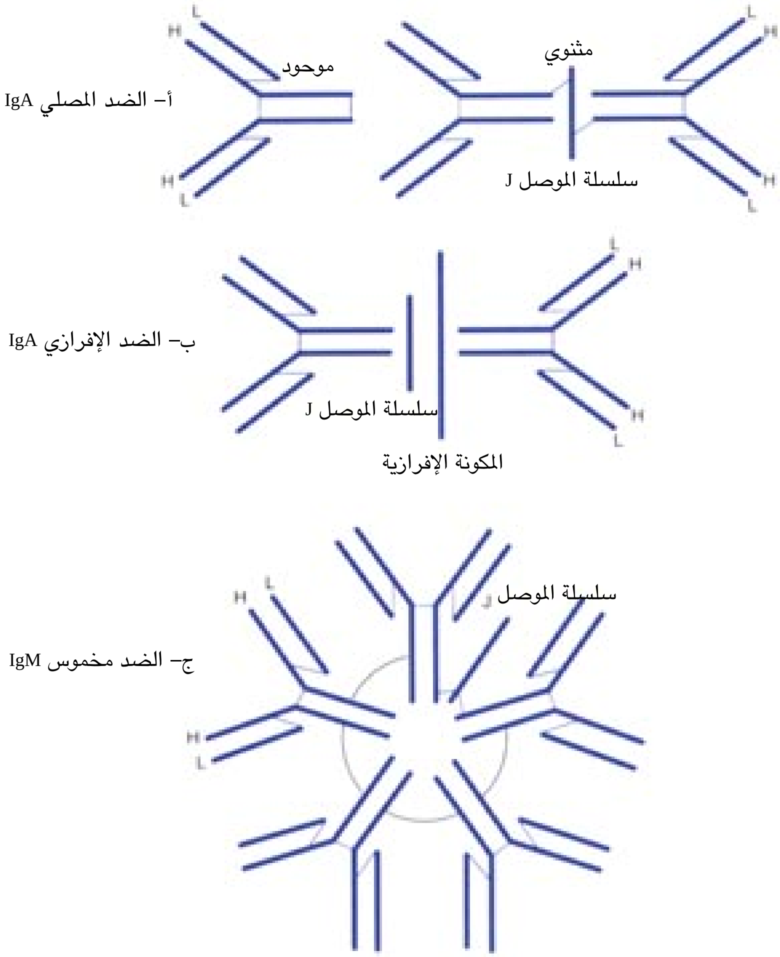
الجدول 59-9: الوظائف الرئيسية لأصناف الجلوبولينات المناعية.



الشكل 59-7: شكل تخطيطي لجزيء IgG تظهر المواضع التقريبية للمناطق مفرطة التغير في السلاسل الثقيلة والخفيفة. ويتشكل الموضع الرابط للمستضد من هذه المناطق مفرطة التغير. وتدعى هذه المناطق أيضاً باسم مناطق تعيين التتام (CDRs).

السلاسل بنوعيها الثقيل والخفيف هي نواتج جينات عديدة:

كل سلسلة خفيفة لأي جلوبولين مناعي هي ناتج ثلاثة جينات بنيوية منفصلة على الأقل: جين للمنطقة المتغيرة V_L وجين للمنطقة الواصلة J (غير السلسلة J في IgA أو IgM) وجين للمنطقة الثابتة C_L (الشكل 41-19). وكل سلسلة ثقيلة هي ناتج أربعة جينات مختلفة على الأقل: جين المنطقة المتغيرة V_H وجين المنطقة المتنوعة D وجين المنطقة الواصلة J وجين المنطقة الثابتة C_H. وهكذا، فإن مفهوم «جين واحد ـ بروتين واحد» غير صحيح. وقد نوقشت الآليات الجزيئية المسؤولة عن توليد سلاسل جلوبولين مناعي واحد من جينات بنيوية عديدة في (الفصلين 38 و 41).



الشكل 59-8: تمثيل توضيحي للجلوبولينات المناعية IgA المصلي و IgA الإفرازي و IgM. ويكون لكل من IgA و IgM سلسلة الموصل J. أما المكونة الإفرازية فموجودة في الجلوبولين IgA الإفرازي فقط. وجرى تمثيل السلاسل عديدة الببتيد بخطوط ثخينة، أما الروابط ثنائية السلفيد الرابطة للسلاسل عديدة الببتيد المختلفة فقد جرى تمثيلها بخطوط دقيقة (L: سلسلة خفيفة؛ H:سلسلة ثقيلة).

يعتمد تنوع الأضداد على مراتبة (إعادة ترتيب) الجينات:

كل شخص قادر على توليد أضداد موجهة إلى نحو مليون مستضد مختلف. ويبدو أن هذا التنوع الضدي الهائل يعتمد على عدة عوامل بما في ذلك وجود عدة شدف جينية (الشدف V و C و J و D) وأشكالها التأشيبية (انظر الفصلين 38 و 41) ومختلف توليفات السلاسل الخفيفة والثقيلة والتواتر المرتفع للطفرات الجسدية في جينات الجلوبولينات المناعية وتنوع المواصلة (Junctional diversity). ويدل الأخير على إضافة أو خبْن عدد عشوائي من النوكليوتيدات عندما تلتحم شدف جينية معينة بعضها مع بعض، وإدخال درجة إضافية من التنوع. وهكذا، تضمن العوامل السابقة تخليق عدد هائل من الأضداد من عدة مئات من الشدف الجينية.

يحصل تحويل الصنف خلال الاستجابة المناعية:

في معظم الاستجابات المناعية الخلطية، تتشكل أضداد من أصناف مختلفة وذات نوعيات متماثلة تتولد في ترتيب زمني محدد خلال الاستجابة للمستمنع (Immunogen) (المستضد الممنع)، فمثلاً أضداد الصنف IgM تسبق جزيئات الصنف IgG عادة. ويعرف تحول الصنف إلى آخر «بتحويل الصنف أو النمط الإسوي» (Class or isotype swiching)، وقد درس جيداً أساسها الجزيئي. وتبين أن نمطا معينا من السلسلة الخفيفة للجلوبولين المناعي ينضم إلى سلسلة μ نوعية للمستضد ليولد جزيء IgM نوعيا. وبعد ذلك، تنضم السلسلة الخفيفة النوعية للمستضد نفسها مع سلسلة جاما ذات المنطقة V_H الماثلة لتوليد جزيء IgG ذي نوعية ضدية مماثلة لتلك التي للجزيء IgM الأصلي. ويمكن أن تنضم السلسلة الخفيفة نفسها مع سلسلة ثقيلة ألفا تحوي أيضاً منطقة مماثلة لتشكيل جزيء IgA مع نوعية ضدية مماثلة. وهذه الأصناف الثلاثة (IgA , IgG , IgM) لجزيئات الجلوبولينات المناعية ضد المستضد نفسه يكون لها حقول متغيرة مماثلة لكل من سلاسلها الخفيفة V_L وسلاسلها الثقيلة V_H، ويقال بأنها تشترك في النمط الذاتي (Idiotype) (والأنماط الذاتية هي المحددات المستضدية المتشكلة من تسلسل أحماض أمينية معينة في المناطق مفرطة التغير). وتكون الأصناف المختلفة لهذه

الجلوبولينات المناعية الثلاثة (وتدعى الأنماط الإسوية (Isotype)) محددة من قبل المناطق C_H التي تتحد مع مناطق V_H النوعية للمستضد نفسه.

تسبب زيادة إنتاج الجلوبولينات المناعية أو نقصه بحدوث حالاتٍ مرضية:

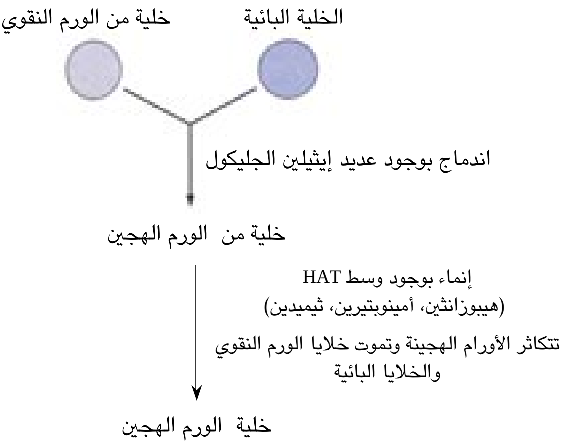
تضم اضطرابات الجلوبولينات المناعية فرط إنتاج أصناف نوعية من الجلوبولينات المناعية أو جزيئات جلوبولين مناعي نوعي أحياناً، وعندما ينجم هذا الأخير عن أورام نسيلية في الخلايا البلازمية نسميه الورم النقوي (Myeloma). ويعد الورم النقوي العديد حالة ورمية تنشؤية يبدي فيها الرحلان الكهربي للمصل أو البول عادة زيادة كبيرة في جلوبولين مناعي معين أو سلسلة خفيفة محددة (وتدعى الحالة الأخيرة باسم بروتين بنس جونس). أما نقص إنتاج الجلوبولينات المناعية في الدم فقد يكون مقتصراً على صنف واحد من جزيئات الجلوبولينات المناعية (IgG أو IgA) وقد يتضمن كل الأصناف (IgM و IgG و IgE و IgD و IgA). ويمكن للنقص الشديد في تخليق صف من صفوف الجلوبولينات المناعية والمسبب بشذوذ وراثي أن يؤدي إلى داء عوز مناعي خطير بسبب الخلل الذي يحدثه في دفاع الجسم ضد الأحياء المجهرية. ومثال ذلك هو فقد جاما جلوبولين الدم حيث يكون إنتاج IgG مضطرباً.

تقدم الأورام الهجينية مصادر طويلة الأمد للأضداد وحيدة النسيلة مفيدة جداً:

عندما يزرق مستضد لحيوان ما، فإن الأضداد الناتجة تكون عديدة النسائل (Polyclonal)، كونها قد خلّقت من قبل مزيج من الخلايا البائية. وتكون الأضداد عديدة النسائل موجهة نحو عدد من المواضع المختلفة (الحواتم (Epitopes) أو المحددات (Deteminants) المستضدية) في المستضد، ولذلك فهي ليست ذات نوعية وحيدة. ومع ذلك، فإنه باستعمال طريقة كوهلر (Kohler) وميلشتاين (Milstien)، يمكن الحصول على كميات كبيرة من أضداد وحيدة النسيلة نوعية لحاتمة واحدة.

تعتمد الطريقة على مبدأ اندماج الخلايا (Cell fusion). وتدعى السلالة الخلوية الدائمة التي نحصل عليها باسم الورم الهجين (Hybridoma). ويجري الحصول عادة على الخلايا البائية من طحال الفأر (أو أي حيوان آخر ملائم)، والذي سبق حقنه بمستضد أو بمزيج من المستضدات (خلايا غريبة مثلاً). وتمزج الخلايا البائية مع خلايا الورم النقوي الفأرية وتعرض للبولي إيتيلين جليكول الذي يسبب اندماج الخلايا. وفي (الشكل 59-9) ملخص للمبدأ الذي تعتمد عليه طريقة توليد خلايا الورم الهجين. وفي الشروط المستعملة، تتضاعف فقط خلايا الورم الهجين في مزرعة الخلايا، ويتضمن ذلك وضع الخلايا الهجينة في وسط يحوي هيبوزانثين ـ أمينوبترين ـ ثيميدين (HAT) بتركيز ما في كل طبق بحيث يحوي خلية واحدة تقريباً. وهكذا، فإن نسيلة (Clone) واحدة من خلايا الورم الهجين تتضاعف في كل طبق. ويجري تحري ناتج الزرع وتقصي الأضداد التي تتفاعل مع المستضد أو المستضدات الأصلية، فإذا كان المستمنع مزيجاً من العديد من المستضدات (محضر لغشاء خلية مثلاً) فإن كل طبق زرع سيحوي نسيلة خلايا ورم هجيني تخلق أضداداً وحيدة النسيلة موجهة إلى محددة مستضدية واحدة نوعية للمزيج وبالحصول على ناتج أوساط العديد من أطباق الزرع يمكن الحصول على مجموعة من الأضداد الوحيدة النسيلة، ومعظمها يكون نوعياً لمكونات محددة من المزيج المستمنع. ويمكن تجميد خلايا الورم الهجين وحفظها ثم إذابتها عندما نحتاج إلى أكثر من ضد، وهذا يؤمن مؤونة منها لفترات طويلة. ويمكن لخلايا الورم الهجين أن تنمو في بطن الفئران لتقدم إمداداً كبيراً نسبياً من الأضداد.

وبسبب نوعية الأضداد وحيدة النسيلة أصبحت كواشف هامة في العديد من الحقول الحيوية والطبية، فمثلاً، يمكن استعمالها لقياس كميات العديد من بروتينات معينة (مثل بروتينات البلازما) ولتقدير طبيعة العوامل العدوائية (مثل أنواع الجراثيم) ولتصنيف كل من الخلايا السوية (كاللمفاويات) والورمية (مثل خلايا الابيضاضات). وبالإضافة لذلك، تستعمل لتوجيه العوامل العلاجية نحو الخلايا الورمية ولتسريع نزع الأدوية من الدوران أيضاً عندما تصل إلى تراكيز سمية (كالديجوكسين مثلاً).



الشكل 59-9: ترسيم لإنتاج خلايا الورم الهجين. تعد خلايا الورم النقوي خلايا خالدة لا تنتج أضداداً ولا تحوي إنزيم ناقلة الفسفوريبوزيل للهيبوزانثين والجوانين (HGPRT) (تجعل سبيل إعاضة تخليق البورينات غير فعال، الفصل 36). أما الخلايا البائية فهي غير خالدة وينتج كل منها أضداداً نوعية وهي تحوي الإنزيم HGPRT. ويحرض عديد إيثيلين الجليكول (PEG) اندماج الخلايا. وتكون خلايا الورم الهجين الناتج خلايا خالدة (بسبب خلايا الورم النقوي الأصلية) وتنتج أضداداً وهي تحوي الإنزيم HGPRT (وكلا هاتين الصفتين تنجمان عن الخلايا البائية الأصلية). وتموت الخلايا البائية في الوسط كونها غير خالدة، وبوجود الوسط HAT (الهيبوازانثين والأمينوبترين والثيميدين) تموت خلايا الورم النقوي أيضاً حيث أن الأمينوبترين الذي يحويه يثبط استحداث البورين (de novo) بتثبيط إعادة استعمال رباعي هيدرو الفولات (الفصل 36). ومع ذلك فإن خلايا الورم الهجين تعيش وتنمو (كونها تحوي الإنزيم HGPRT) وإذا جرى تنسيلها تعطي أضداداً وحيدة النسيلة.

تتألف جملة المتممة من نحو 20 بروتيناً بلازمياً وتساهم في حل الخلايا والالتهابات وبعض العمليات الأخرى:

تحوي البلازما نحو 20 بروتيناً تعد أعضاء في جملة المتممة. وقد اكتشفت هذه الجملة عندما لوحظ أن إضافة المصل الطازج المحتوي على الأضداد الموجهة

للجراثيم يسبب حل هذه الجراثيم. وبعكس الأضداد، يكون هذا العامل عطوباً عند تسخينه إلى الدرجة 56°م. وقد استطاعت الأبحاث بعد ذلك أن تحدد بروتينات هذه الجملة وعملها، كما جرى تنسيلها وسلسلتها. وتدعى المكونات البروتينية الأساسية فيها من C1 إلى C9، حيث يتحد C9 مع المعقد C5 - 8 (تشكل بمجموعها معقد مهاجمة الغشاء) الذي يساهم في إحداث مسام ذوابة بالدهون في غشاء الخلية مما يسبب انحلالها تناضحياً.

وتفاصيل هذه الجملة معقدة نسبياً، ويجب الرجوع إلى كتب المناعة المتخصصة لفهمها، ولكن المفهوم الأساسي هو أن البروتينات غير الفعالة بشكل سوي في هذه الجملة تُفَعَّل بمحرض ما وتتنشط بالحل البروتيني وتتآثر بتسلسل نوعي مع واحد أو أكثر من البروتينات الأخرى في هذه الجملة. ويؤدي ذلك إلى حل الخلية وتوليد أجزاء أو شدف ببتيدية أو عديدة الببتيد تساهم في أشكال عديدة من الالتهاب (الانجذاب الكيميائي، البلعمة... إلخ). ويكون للجملة وظائف أخرى كتخليص الدوران من المعقدات الضدية المستضدية. ويبتدئ تفعيل جملة المتممة بأحد سبيلين: السبيل الكلاسيكي والسبيل البديل. ويحصل الأول بالتآثر مع المعقدات الضدية المستضدية أما الطريق الثاني (لا تساهم فيه الأضداد) فيحصل بتآثر مباشر بين سطوح الخلايا الجرثومية أو عديدات السكريد مع المكون الذي يدعى C3b.

تتشابه جملة المتممة مع تخثر الدم (انظر لاحقاً) من حيث أن كليهما يجري بتحول الطلائع غير الفعالة إلى نواتج فعالة بواسطة البروتيازات وبحصول شلال التفاعلات مع التضخيم.

للإرقاء والخثار ثلاثة أطوار مشتركة:

الإرقاء (Hemostasis) هو توقف النزف من جرح أو وعاء متهتك في حين يحصل الخثار (Thrombosis) عندما تكون البطانة الوعائية الدموية متخربة أو مستأصلة (تمزق لويحة عصيدية مثلاً). وتؤدي هذه العمليات إلى تجلط الدم (التخثر) الذي تساهم فيه الأوعية الدموية وبروتينات البلازما التي تشكل كداسات الصفيحات وتحللها.

يحدث في الإرقاء تضيق أولي في الوعاء المتأذي مما يؤدي إلى نقص جريان الدم بعد المنطقة المتأذية ثم يحدث ما يلي:

1 – تشكيل كداسات الصفيحات المؤقتة والمخلخلة في منطقة التأذي. وترتبط الصفيحات إلى الكولاجين في منطقة تأذي جدار الوعاء وتتفعل بالثرومبين (Thrombin) (آلية تفعيل الصفيحات مذكورة لاحقاً) المُتشكل في شلال التخثر في المنطقة نفسها أو بالـ ADP المتحرر من صفيحات مفعلة أخرى. وبتأثير التفعيل، يتغير شكل الصفيحات، وبوجود مولد الفِبرين تتكدس لتشكل سدادة الإرقاء (في الإرقاء) والخثرة (في الخثار).

2 – تشكيل شبكة الفبرين التي ترتبط بكداسة الصفيحات مشكلة سدادة إرقاء أكثر ثباتاً أو الخثرة الدموية.

3 – انحلال جزئي أو كامل لسدادة الإرقاء بواسطة البلازمين (Plasmin).

هناك ثلاثة أنماط للخثرات:

أمكن تمييز ثلاثة أنماط للخثرات أو الجلطات، وجميعها تحوي الفبرين ولكن بنسب مختلفة.

1 – الخثرة البيضاء، وتتكون من الصفيحات والفبرين، وتكون فقيرة بالكريات الحمراء. وتتشكل في موضع التأذي أو على جدار الوعاء الشاذ، وعلى الأخص في المناطق التي يكون جريان الدم فيها سريعاً (الشرايين).

2 – الخثرة الحمراء، وتتكون بشكل رئيسي من كريات حمراء وفبرين. وتشبه من الناحية الشكلية الخثرة المتشكلة في أنبوب الاختبار، وقد تتشكل في الحي في مناطق جريان الدم العائد أو الراكد (كالأوردة)، مع أو من دون تأذ وعائي، أو يمكن أن تتشكل في موضع التأذي أو في الوعاء الشاذ، وذلك بالمشاركة مع سدادة الصفيحات البدئية.

3 – النمط الثالث هو ترسب الفبرين المنتشر في الأوعية الدموية الصغيرة جداً أو الأوعية الشعرية.

وسنصف أولاً سبيل التخثر الدموي الذي يؤدي إلى تشكل الفبرين ثم سنتعرض باختصار لبعض أشكال مساهمة الصفيحات وجدران الأوعية الدموية في كامل عملية التخثر. ويعد هذا الفصل لعوامل التخثر والصفيحات صنعياً، حيث يلعب كل منهما دوراً كبيراً وأحياناً تبادلياً في التخثر، ولكنه يسهل وصف كامل العمليات المساهمة في التخثر.

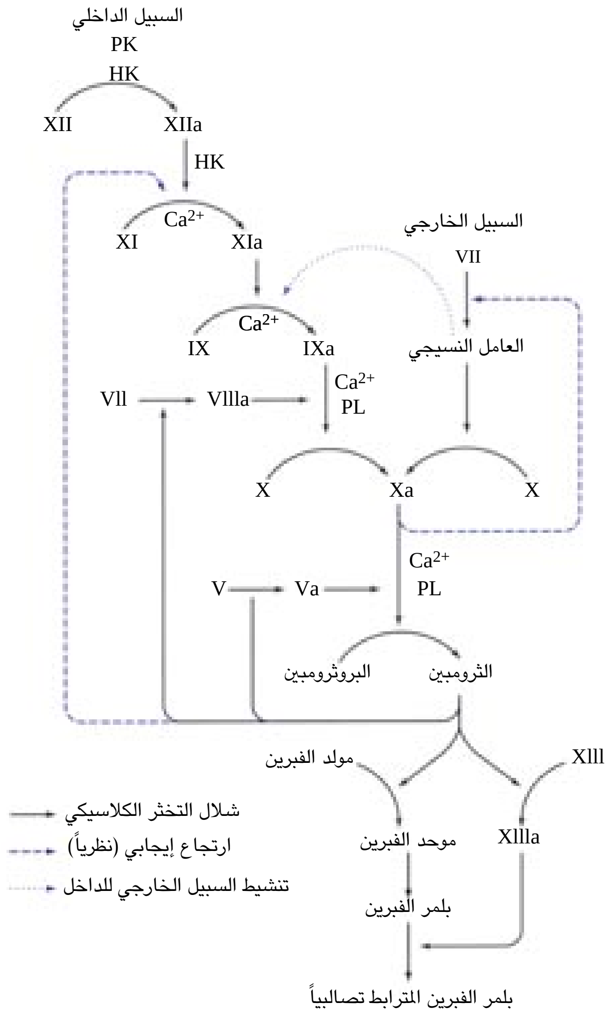
يؤدي كل من السبيلين الداخلي والخارجي إلى تشكيل الفبرين:

هناك سبيلان يؤديان إلى تشكيل خثرة الفبرين: السبيل الداخلي والسبيل الخارجي. وهذان السبيلان ليسا مستقلين كما يظن. ومع ذلك، فإننا حافظنا في الفقرات التالية على هذا التمييز التصنيفي لتسهيل الوصف.

يتوسط السبيل الخارجي ابتداء تشكيل خثرة الفبرين كاستجابة للأذية النسيجية أما تفعيل السبيل الداخلي فلم تعرف آليته بعد لكنه يتضمن وجود سطح مشحون سلباً. ويصب هذان السبيلان في طريق مشترك نهائي يساهم في تفعيل البروثرومين إلى ثرومبين وشطر مولد الفبرين المحفز بالثرومبين لتشكيل خثرة الفبرين. وجميع هذه السبل (الداخلي والخارجي والنهائي المشترك) معقدة وتشمل العديد من البروتينات المختلفة (الشكل 59-10 والجدول 59-10). وبشكل عام وكما هو ملاحظ في (الجدول 59-11)، يمكن تصنيف هذه البروتينات في خمسة أنماط: (1) مولدات إنزيمات البروتيازات المعتمدة على السيرين، والتي تتفعل خلال عملية التخثر، (2) والتمائم العاملة (Cofactors)، (3) ومولد الفيرين، (4) وناقلة الجلوتامين التي تثبت خثرة الفبرين، (5) والبروتينات المنظمة وغيرها.

يقود السبيل الداخلي إلى تفعيل العامل X:

يضم السبيل الداخلي (الشكل 59-10) كلاً من العوامل X و VIIIو IX و XIو XII وسلف الكاليكرين والكينينوجين ذي الوزن الجزيئي المرتفع (HMW) وأيونات الكالسيوم والشحميات الفسفورية للصفيحات، ويقود إلى إنتاج العامل Xa (يشار اصطلاحاً إلى عوامل التخثر المفعلة باستعمال اللاحقة a).



الشكل 59-10: سبل تخثر الدم. وقد أشير إلى السبيلين الداخلي والخارجي، وتدعى الأحداث التي تحصل بعد العامل Xa بالسبيل العام النهائي المشترك والذي يصل ذروته بتشكل الفِبرين المترابط تصالبياً. وقد توصلت ملاحظات حديثة (الخط المنقط) إلى أن معقدات العامل النسيجي والعامل VIIa لا تنشط العامل X (في السبيل التقليدي الخارجي) فحسب بل العامل IX في السبيل الداخلي أيضاً. وبالإضافة لذلك، فإن الثرومبين والعامل Xa يفعلان بالتلقيم الراجع في الموضعين المشار إليهما (بالخطوط المتقطعة) (PK: سلف الكاليكرين؛ HK: الكينينوجين ذو الوزن الجزيئي المرتفع؛ PL: الشحميات فسفورية).

يبدأ هذا السبيل «بطور التماس» الذي يتعرض فيه كل من سلف الكاليكرين والكينينوجين ذي الوزن الجزيئي المرتفع والعامل XII والعامل XI إلى سطح مفعل مشحون سلباً. وقد تقوم البروتينات، الكولاجينات، بالتجمع على السطح المعرض أو المكشوف من الوعاء الدموي في الكائن الحي في حين يمكن استعمال الزجاج أو الكاؤولان لدراسة السبيل الداخلي في المختبر. وعندما تجتمع مكونات طور التماس على السطح المُفَعَّل يتنشط العامل XII ليتحول إلى XIIa بالحل البروتيني بواسطة الكاليكرين، وهذا العامل (XIIa) المتولد بالكاليكرين يهاجم سلف الكاليكرين ليولد المزيد من الكاليكرين (تنشيط متبادل). وينشط العامل XIIa عند تشكله العامل XI إلى XIa، ويطلق البراديكينين (ببتيد تساعي (Nonapeptide)) له تأثير قوي موسع للأوعية) من الكينينوجين ذي الوزن الجزيئي المرتفع.

يعمل العامل XIa– بوجود أيونات الكالسيوم ـ على تنشيط العامل IX (55ك. دالتون، وهو مولد إنزيم يحتوي على ثمالات جاما ـ كربوكسي جلوتامات (Gla) المعتمدة على الڤيتامين K؛ انظر الفصل 53) إلى بروتياز السيرين، أي العامل IXa، وهذا بدوره يشطر الرابطة Arg-Ile في العامل X (56ك. دالتون) ليعطي بروتياز السيرين ثنائية السلسلة، أو العامل Xa، ويحتاج هذا التفاعل الأخير إلى تجميع مكونات ما يدعى بالمعقد العشاري أو معقد التيناز (Tenase) على سطح الصفيحات المفعلة، وهذه المكونات هي أيونات الكالسيوم والعامل VIIIa والعاملين IXa و X أيضاً.

وتجب ملاحظة أنه في كل التفاعلات التي تضم مولدات الإنزيم المحتوية على Gla (العوامل X و IX و VII و II)، تعمل ثمالات Gla في مناطق النهايات الأمينية للجزيئات كمواضع رابطة عالية الألفة لأيونات الكالسيوم. ومن أجل تجميع معقد التيناز، يجب أن تتفعل الصفيحات أولاً لكشف الشحميات الفسفورية الحمضية (الصاعدية) وفسفاتيديل السيرين وفسفاتيديل الإينوزيتول، والتي تكون على الجانب الداخلي للغشاء البلازمي للصفيحات غير المفعلة الباقية. والعامل VIII (330 ك. دالتون) هو بروتين سكري، وليس طليعة بروتيازية، ولكنه تميم عامل يفيد كمستقبلة للعاملين IXa و X على سطوح الصفيحات. ويفعل العامل VIII بكميات

صغيرة من الثرومبين ليتشكل العامل VIIIa الذي يتعطل عند شطره مرة أخرى بفعل الثرومبين.

يقود السبيل الخارجي أيضاً إلى تنشيط العامل X ولكن بآلية مختلفة:

يوجد العامل Xa عند الموضع الذي يلتقي فيه السبيلان الداخلي والخارجي (الشكل 59-10) ليبدأ السبيل العام النهائي لتخثر الدم. ويضم السبيل الخارجي العامل النسيجي والعاملين X و VII وأيونات الكالسيوم، ويؤدي إلى إنتاج العامل Xa. ويبتدئ في موضع التأذي النسيجي بالتعبير عن العامل النسيجي (الشكل 59-10) على الخلايا البطانية. ويتآثر العامل النسيجي مع العامل VII (53 ك. دالتون) ويفعله (العامل VII هو بروتين سكري جوال يحتوي على الجلوتامين ويخلقه الكبد). كما يعمل العامل النسيجي كتميم عامل للعامل VIIa الذي يحفز تنشيط العامل X. ويعمل العامل VIIaعلى شطر الرابطة Arg-Ile نفسها الموجودة في العامل X والتي يشطرها المعقد العشاري (التيناز) في السبيل الداخلي. ويربطُ تنشيط العامل X بين السبيلين الداخلي والخارجي.

وهناك تآثر هام آخر بين السبيلين الداخلي والخارجي هو أن معقدات العامل النسيجي والعامل VIIa تنشط العامل IX في السبيل الداخلي. وفي الحقيقة، إن تشكل المعقدات بين العامل النسيجي والعامل VIIa قد يكون العملية المفتاح التي تساهم في ابتداء تخثر الدم في الكائن الحي. وقد أصبحت الدلالة الفيزيولوجية للخطوات الابتدائية للسبيل الداخلي ـ والتي يساهم فيها كل من العامل XII وسلف الكاليكرين والكينينوجين مرتفع الوزن الجزيئي ـ موضع تساؤل إذا علمنا أن المرضى المصابين بأمراض العوز الوراثي لهذه المكونات لا يبدون أية مشاكل نزفية.وبشكل مماثل، فإن مرضى عوز العامل XI أيضاً قد لا يكون لديهم مشاكل نزفية.

يمكن أن يكون السبيل الداخلي أكثر أهمية بالفعل في تحلل الفبرين (انظر لاحقاً) منه في التخثر لأن الكاليكرين والعامل XIIa والعامل XIa تستطيع شطر مولد البلازمين، كما يستطيع الكاليكرين تنشيط اليوروكيناز أحادية السلسلة.

يعد مثبط سبيل العامل النسيجي (Tissue factor pathway inhibitor ;TFPI) مثبطاً فيزيولوجياً هاماً في التخثر. وهو بروتين يجول في الدم مرتبطاً بالبروتينات الشحمية ويثبط بشكل مباشر العامل Xa بالارتباط مع الإنزيم قرب موضعه الفعال، ثم يثبط هذا العامل المعقد X a-TFPI المعقد المكون من العامل النسيجي و VIIa.

يشمل السبيل المشترك النهائي لتخثر الدم تنشيط البروثرومبين إلى الثرومبين:

في السبيل المشترك النهائي، يعمل العامل Xa الذي ينتج عن أحد السبيلين الخارجي أو الداخلي على تنشيط البروثرومبين (العامل II) إلى الثرومبين (العامل IIa) الذي يحول مولد الفبرين إلى فبرين (الشكل 59-10). ويحصل تنشيط البروثرومبين (كما في تنشيط العامل X) على سطح الصفيحات المفعلة، ويتطلب تجميع معقد البروثرومبيناز الذي يتألف من الشحميات الفسفورية الصاعدية للصفيحات وأيونات الكالسيوم والعامل Va والعامل Xa والبروثرومبين.

يشبه العامل V (هو بروتين سكري وزنه الجزيئي 330 ك. دالتون) العامل VIII والسيرولوبلازمين ويخلق في الكبد والطحال والكلية، ويوجد في الصفيحات، كما يوجد في البلازما. ويعمل كتميم عامل بطريقة شبيهة لحالة العامل VIII في معقد التيناز (العشاري). وعندما يفعل ليصبح العامل Va (بآثار زهيدة من الثرومبين) فإنه يرتبط إلى مستقبلات نوعية على غشاء الصفيحات (الشكل 59-11)، ويشكل معقداً مع العامل Xa والبروثرومبين. وبعد ذلك يجري تعطيله بواسطة الثرومبين مما يحد من تنشيط البروثرومبين إلى الثرومبين. والبروثرومبين (72 ك. دالتون) (الشكل 59-12) هو بروتين سكري وحيد السلسلة يخلق في الكبد ويحتوي على عشر ثمالات Gla قرب نهايته الأمينية (1 في الشكل 59-12). أما موضع البروتياز الفعالة المعتمدة على السيرين (والذي أشير إليه برأس سهم) فهو في منطقة النهاية الكربوكسيلية للجزيء. وعند الارتباط بمعقد العاملين Vaو Xa على الغشاء الصفيحي ينشطر البروثرومبين بواسطة العامل Xa في موضعين (الشكل 59-11) ليتولد جزيء الثرومبين الفعال ثنائي السلسلة. وترتبط سلسلتا الثرومبين A و B معاً بروابط ثنائية السلفيد.

يحفّز الثرومبين تحول مولد الفِبرين إلى الفِبرين:

مولد الفبرين (Fibrinogen) (العامل I، 340 ك. دالتون، انظر الشكلين 59-10 و 59-13، والجدولين 59-10 و 59-11) هو بروتين سكري بلازمي ذواب يتألف من ثلاثة أزواج غير متماثلة من السلاسل عديدة الببتيد $(A\alpha,B\beta\gamma)_2$ مرتبطة تساهمياً بروابط ثنائية السلفيد. وتحوي السلاسل Bβ و γ قلائل سكريد معقدة مرتبطة بالأسباراجين. ويجري تخليق السلاسل الثلاث في الكبد، وتتوضع الجينات البنيوية الثلاثة على الكروموسوم نفسه ويجري التعبير عنها معاً لدى البشر. وتتقارب مناطق النهايات الأمينية للسلاسل الست بواسطة عدد من الروابط ثنائية السلفيد. وأما مناطق النهايات الكربوكسيلية فتنتشر متباعدة مما يجعل الجزيء متطاولاً وعديم التناظر (الشكل 59-13). وتحمل الأجزاء A و B من السلاسل Aα و Bβ، والتي تدعى الببتيدات الفبرينية (FPA) A و (FPB) B على التوالي، عند نهاياتها الأمينية مزيداً من الشحنات السلبية كنتيجة لوجود ثمالات الأسبارتات والجلوتامات، وكذلك التيروزين O– سلفات غير المعتاد في الببتيد FPB. وتساهم هذه الشحنات السلبية في ذوبان مولد الفبرين في البلازما، وتفيد في منع التكدس بإحداث تنافر كهربائي ساكن بين جزيئات مولد الفبرين.

يتشكل الثرومبين (Thrombin) (بروتياز معتمد على السيرين؛ وزنه الجزيئي 34 ك. دالتون) بفعل معقد البروثرومبيناز (Prothrombinase)، ويحلمه الروابط Arg-Gly الأربعة التي تربط الببتيدات الفبرينية والأجزاء ألفا وبيتا من السلاسل Aα و Bβ للفبرينوجين (الشكل 59-14، A). ويولد إطلاق الببتيدات الفبرينية بواسطة الثرومبين موحود الفبرين ذي البنية $(\alpha,\beta,\gamma)_2$ وبما أن FPA و FPB يحويان 16 و 14 ثمالة فقط على التوالي، فإن جزيء الفبرين يحتفظ بنحو 98٪ من الثمالات الموجودة في مولد الفبرين. ويكشف نزع الببتيدات الفبرينية مواضع الربط التي تسمح لجزيئات المواحيد الفبرينية بالتكدس تلقائياً في مصفوفة مكررة بانتظام لتشكيل خثرة الفبرين غير المنحلة.

إن تشكل بلمر الفبرين غير الذواب هو الذي يجتذب الصفيحات والكريات الحمراء والمكونات الأخرى لتشكيل الخثرة البيضاء أو الحمراء. وتكون خثرة الفبرين البدئية ضعيفة وتتماسك بروابط غير تساهمية لمواحيد الفبرين فقط.

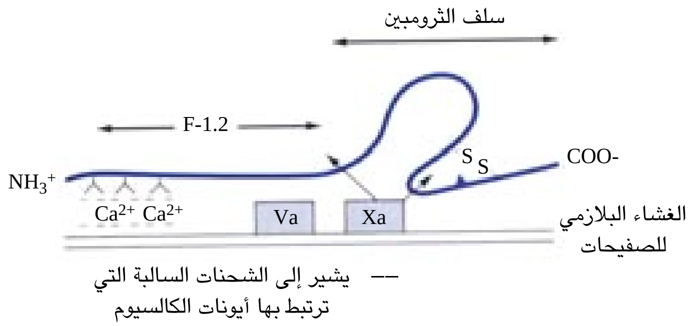
وبالإضافة إلى تحول مولد الفبرين إلى فِبرين، فإن الثرومبين يحول أيضاً العامل XIII إلى العامل XIIIa، وهذا العامل هو ناقلة جلوتاميل عالية النوعية تربط جزيئات الفبرين تساهمياً بتشكيلها روابط ببتيدية بين مجموعات الأميد للجلوتامين والمجموعات الأمينية إبسيلون لثمالات الليزين (الشكل 59-14، B) لإعطاء خثرة فبرينية أكثر ثباتاً ومقاومة للحل البروتيني.

العامل	الاسم الشائع
I II	مولد الفِبرين البروثرومبين } غالباً ما يستعمل الاسمان الشائعان للإشارة إلى هذين العاملين
III IV	العامل النسيجي Ca^{2+} } لا يعتبران عادة من عوامل التخثر
V	طليعة الأكسيليرين، العامل المُقَلقَل، الجلوبولين المسرع (-Ac)
VII[1]	طليعة الكونفرتين، وهو مسرع لتحول بروثرومبين المصل (SPCA)، تميم الثرومبوبلاستين
VIII	العامل المضاد للناعور A، الجلوبولين المضاد للناعور (AHG)
IX	العامل المضاد للناعور B، عامل كريسماس، مكون الثرومبوبلاستين البلازمي (PTC)
X	عامل ستيوارت ـ بروور
XI	العامل السابق للثرومبوبلاستين البلازمي (PTA)
XII	عامل هاجمان (Hagman)
XIII	العامل المثبت للفبرين (FSF)، الفبرينوليجاز

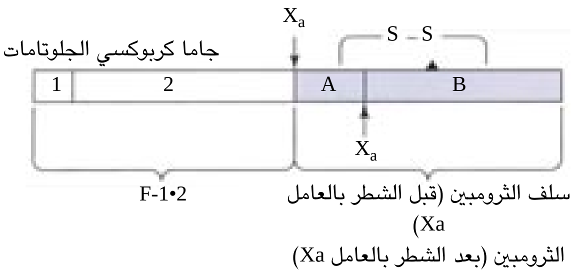
الجدول 59-10: النظام الرقمي لتسميات عوامل التخثر، وتشير الأرقام إلى ترتيب اكتشافها زمنياً وليس إلى الترتيب الذي تعمل به.

مولدات إنزيمات بروتيازات السيرين	
العامل XII	يرتبط بالسطح السلبي لموضع أذية الجدار الوعائي، ويجري تفعيله بالكينينوجين عالي الوزن الجزيئي والكاليكرين
العامل XI	يجري تفعيله بالعامل XIIa
العامل IX	ينشط بالعامل XIa بوجود Ca^{2+}
العامل VII	ينشط بالثرومبين بوجود Ca^{2+}
العامل X	يفعل على سطح الصفيحَات المنشطَة بمعقد التيناز (Ca^{2+}، العاملين VIIIaو IXa) وبالعامل VIIa بوجود العامل النسيجي وأيونات الكالسيوم.
العامل II	يفعل على سطح الصفيحَات المنشطَة بمعقد طليعة الثرومبيناز (Ca^{2+}، العاملين Va و Xa) [العوامل II و VIIو IX و X هي مولدات إنزيمية تحتوي على Gla] (Gla ـ جاما ـ كربوكسي جلوتامات).
التمائم العاملة (Cofactors)	
العامل VIII	يفعل بالثرومبين. والعامل VIIIa هو تميم عامل في تفعيل العامل X بواسطة العامل IXa.
العامل V	يفعّل بالثرومبين. والعامل Va هو تميم عامل في تفعيل البروثرومبين بواسطة العامل Xa
العامل النسيجي (العامل III)	بروتين سكري يعبر عن نفسه على سطح الخلايا البطانية المنبهة أو المتأذّية ليعمل كتميم عامل للعامل VIIa
مولد الفيبرين	
العامل I	يتشطر بالثرومبين لتشكيل خثرة الفبرين
ناقلة الجلوتامين المعتمدة على الثيول	
العامل XIII	يفعل بالثرومبين بوجود Ca^{2+}، ويثبت خثرة الفبرين بروابط تصالبية تساهمية
البروتينات المنظمة وغيرها	
البروتين C	يفعل إلى البروتين Ca بواسطة الثرومبين المرتبط بالثرومبومودولين، ثم يدَرك العاملين VIIIaو Va
البروتين S	يعمل كتميم عامل للبروتين C، ويحوي كلا البروتينين ثمالات Gla (جاما ـ كربوكسي الجلوتامات)
الثرومبومودولين	بروتين على سطح الخلايا البطانية، يربط الثرومبين الذي يفعل فيما بعد البروتين C

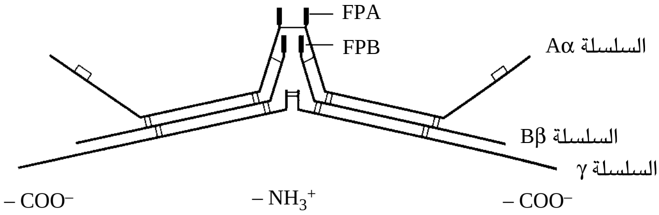
الجدول 59-11: وظائف البروتينات المساهمة في تخثر الدم.



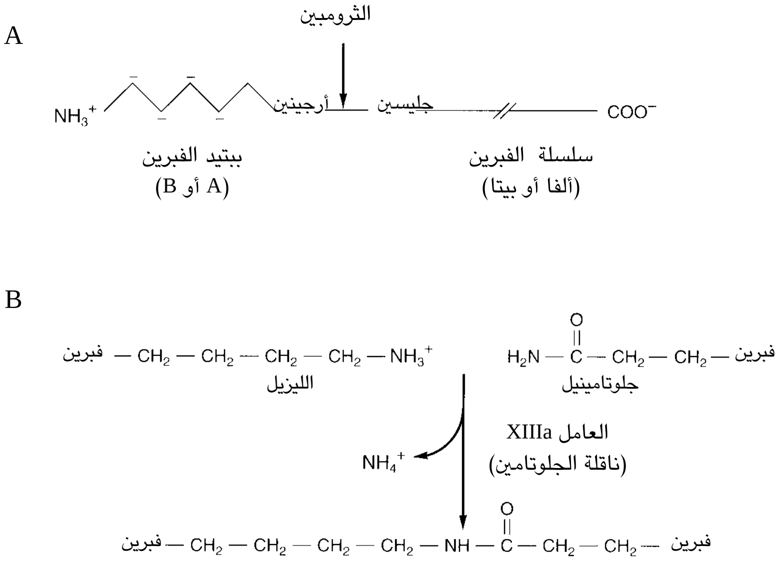
الشكل 59-11:مخطط تمثيلي لربط العوامل Va و Xa و Ca^{2+} وطليعة الثرومبين (البروثرومبين) مع الغشاء البلازمي للصفيحات المفعلة، وقد أشير إلى موضع تشطر البروثرومبين بالعامل Xa بسهمين. ويدعى الجزء من البروثرومبين المخصص لتشكيل الثرومبين بسلف الثرومبين (Prethrombin). ويرتبط Ca^{2+} إلى الشحميات الفسفورية الأنيونية في الغشاء البلازمي للصفيحات المفعلة.



الشكل 59-12: ترسيم لطليعة الثرومبين. النهاية الأمينية إلى اليسار. وتحوي المنطقة 1 جميع ثمالات Gla العشر، وتظهر مناطق التشطر بالعامل Xa وقد سميت نواتجها. كما أشير إلى موضع ثمالة السيرين الفعالة تحفيزياً بالمثلث المصمت، وترتبط السلاسل A و B للثرومبين الفعال (المظللة) برابطة ثنائية السلفيد.



الشكل 59-13 : تمثيل تخطيطي للفِبرينوجين يظهر أزواج السلاسل Aα و Bβ و γ المرتبطة بروابط ثنائية السلفيد. (FPA: ببتيد الفبرين A؛ FPB: ببتيد الفِبرين B).



الشكل 59-14: تشكيل خثرة الفبرين. A: تشطر الروابط Arg-Gly في السلاسل Aα و Bβ من مولد الفبرين بواسطة الثرومبين فتتولد ببتيدات الفبرين (النصف الأيسر) والسلاسل Aα و Bβ من موجود الفبرين (النصف الأيمن). B: الارتباط التصالبي لجزيئات الفبرين بوساطة العامل المنشط XIII (العامل XIIIa).

يجب ضبط مستويات الثرومبين الجوال بدقة وإلا تشكلت الخثرات:

عندما يتشكل الثرومبين الفعال في سياق الإرقاء أو التخثر يجب ضبط تركيزه بدقة لمنع تشكل المزيد من الفبرين أو تنشيط الصفيحات مرة أخرى، ويجري ذلك بطريقين:

1 – يجول الثرومبين كطليعة غير فعالة هي البروثرومبين، ويفعل الأخير نتيجة لشلال من التفاعلات الإنزيمية يحول كل منها مولد الإنزيم غير الفعال إلى إنزيم فعال ويؤدي أخيراً إلى تحول البروثرومبين إلى ثرومبين (الشكل 59-10). وفي كل نقطة من الشلال، تؤدي آلية الارتجاع إلى إحداث توازن دقيق بين التنشيط والتثبيط. ويكون تركيز العامل XII في البلازما نحو 30 مكج/مل في حين يكون تركيز مولد الفبرين 3 مجم/ مل مع تزايد تراكيز عوامل التخثر الوسطية كلما تقدمنا نزولاً في شلال التخثر، وهذا ما يبين أن شلال التخثر يحدث التضخيم.

2 – الطريقة الثانية لضبط نشاط الثرومبين هي تعطيل أي ثرومبين متشكل بواسطة مثبطات جوالة أهمها مضاد الثرومبين III (انظر لاحقاً).

تزداد فعالية مضاد الثرومبين III (أحد مثبطات الثرومبين) بفعل الهيبارين:

توجد أربعة مثبطات طبيعية للثرومبين في البلازما السوية، وأكثرها أهمية هو مضاد الثرومبين III (يسمى مضاد الثرومبين للتبسيط) الذي يساهم في نحو 75 ٪ من الفعالية المضادة للتخثر في البلازما. ويستطيع مضاد الثرومبين أيضاً تثبيط فعاليات العوامل XIIa و XIa و Xa و IXa و VIIa المعقدة مع النسيجي. ويساهم الجلوبولين الكبروي ـ ألفا 2 في معظم الفعالية الباقية المضادة للثرومبين، ويساهم التميم العامل II للهيبارين ومضاد التريبسين ألفا1 بنسبة بسيطة في الحالة الفيزيولوجية.

يتقوى النشاط الداخلي لمضاد الثرومبين III بوجود البروتيوجليكانات كالهيبارين (Heparin) (الفصل 75). وترتبط هذه البروتيوجليكانات إلى موضع

كاتيوني نوعي لمضاد الثرومبين III محرضة تغيراً في هيئة الأخير الفراغية (تهايؤه) ومحضضة ارتباطه بالثرومبين وغيره من الركائز. وهذا هو أساس استعمال الهيبارين في الطب السريري لتثبيط التخثر. ويمكن أن تعمل عديدات ببتيد كاتيونية قوية، مثل البروتامين (Protamine)، على معاكسة تأثيرات الهيبارين المضادة للتخثر بارتباطها بالهيبارين، مما يثبط من ارتباطه بمضاد الثرومبين III. ويحصل لدى الأشخاص المصابين بعوز وراثي لمضاد الثرومبين III خثرات وريدية متكررة ومنتشرة مما يقدم دليلاً على أن لمضاد الثرومبين III وظيفة فيزيولوجية وأن جملة التخثر لدى البشر هي دائماً في حالة ديناميكية.

يساهم الثرومبين في آلية أخرى لتنظيم التخثر فهو يرتبط مع الثرومبومودولين (Thrombomodulin)، وهو بروتين سكري يوجد على سطوح الخلايا البطانية. ويعمل المعقد المتشكل على تنشيط البروتين C إلى البروتين Ca. وبالاشتراك مع البروتين S، يعمل تميم عامل يدعى البروتين C المفعل (APC) على تدرك العاملين Va و VIIIaمما يحد من أثرهما في التخثر. ويمكن للعوز الوراثي في أي من البروتين C أو البروتين S أن يؤدي إلى خثارات وريدية خطيرة. كما أن المصابين بعامل ليدين V [Factor V Leiden] (حيث تحل ثمالة جلوتامين محل الأرجينين في الموضع 506) يكونون في خطر مرتفع من الإصابة بداء الخثار الوريدي لأن عامل ليدين الخامس مقاوم للتعطيل بالمركب APC، وتدعى هذه الحالة مقاومة البروتين C المفعل (APC).

تثبط مضادات التخثر الكومارينية إضافة الكربوكسيل المعتمدة على فيتامين K إلى العوامل X و IX و VII و II:

تعمل الأدوية الكومارينية (كالوارفارين) المستخدمة كمضادات تخثر على تثبيط إضافة الكربوكسيل المعتمدة على الفيتامين K إلى ثمالات Glu وتشكيل ثمالات Gla (انظر الفصل 35) في النهايات المطرافية الأمينية في كل من العوامل X و IX و VII و IIX، وأيضاً في البروتينين C و S. وهذه البروتينات، والتي تخلق جميعاً في الكبد، تعتمد على خصائص ربط أيونات الكالسيوم إلى ثمالات Gla من أجل

قيامها بوظيفتها السوية في سبيل التخثر. وتعمل الكومارينات على تثبيط اختزال المشتقات الكينونية للڤيتامين K إلى أشكالها الهيدروكينونية الفعالة (الفصل 53). وهكذا، فإن إعطاء الڤيتامين K سيؤدي إلى تجاوز التثبيط المحرض بالكومارين، وإلى نضج العوامل المحتوية على Gla. ويتطلب عكس تثبيط الكومارين بإعطاء الڤيتامين K مدة من الزمن (12-24 ساعة)، في حين يحصل عكس تأثيرات الهيبارين المضادة للتخثر بواسطة البروتامين بشكل آني تماماً.

يستعمل الهيبارين والوارفارين بشكل واسع في معالجة الحالات الخثرية والصمات الخثرية كما في الخثار الوريدي العميق والصمة الرئوية. ويعطى الهيبارين أولاً لتأثيره السريع، في حين يحتاج الوارفارين إلى عدة أيام ليعطي تأثيراً كاملاً. وتجري مراقبة هذه التأثيرات بدقة بالاعتماد على اختبارات التخثر المناسبة (انظر فيما بعد) بسبب خطورة حصول النزوف.

ينجم الناعور A عن عوز وراثي في العامل VIII:

تحصل لدى البشر أعواز وراثية في مكونات جملة التخثر أكثرها شيوعاً هو عوز العامل VIII المسبب للناعور A، وهو مرض مرتبط بالكروموسوم الجنسي لعب دوراً كبيراً في تاريخ العائلات الملكية في أوروبا. أما الناعور B فينجم عن عوز في العامل IX، وتكون مظاهره السريرية مشابهة تماماً للناعور A. ولكن يمكن تمييز الحالتين اعتماداً على الاختبارات النوعية التي تميز بين العاملين.

لقد جرى تنسيل جين العامل VIII البشري، وهو أحد أهم الجينات التي تركزت الدراسات عليها بكثرة ويقيس 186 كيلو أساس طولاً ويحوي 26 إكسوناً وقد جرى كشف العديد من الطفرات المؤدية إلى نقص فعالية العامل VIIIومنها أخبان الجين الجزئية والطفرات النقطية التي تؤدي إلى إنهاء السلسلة بشكل مبكر. وحالياً، يمكن إجراء التشخيص قبل الولادة بتحليل الدنا (DNA) بعد أخذ عينة من الزغابات المشيمائية.

تضمنت معالجة الناعور A في السنوات الأخيرة إعطاء الرواسب البردية (Cryoprecipitate) الغنية بالعامل (VIII) المحضرة من أشخاص متبرعين أو

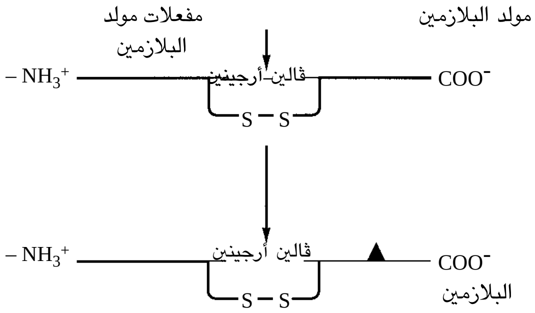
مركزات العامل VIII المجمدة والمحضرة من جميعات البلازما من نحو 5000 متبرع. وحالياً، أصبح من الممكن تحضير العامل VIII بطريقة مأشوب الدنا، ويجب أن تكون هذه المحضرات خالية من الفيروسات الملوثة (كفيروسات الإيدز والتهابات الكبد) الموجودة في البلازما البشرية، وهي مكلفة في الوقت الحالي. وقد يزداد استعمالها إذا انخفضت كلفة إنتاجها.

تنحل خثرات الفبرين بواسطة البلازمين:

كما ذكرنا سابقاً، تكون جملة التخثر لدى الأسوياء في حالة توازن ديناميكي بحيث تنحل خثرات الفبرين بشكل دائم، وتدعى العملية الأخيرة باسم انحلال الفبرين (Fibrinolysis). وقد يكون البلازمين، وهو بروتياز سيرين، مسؤولاً بشكل أساسي عن تدرك الفِبرين ومولد الفبرين، وهو يجول بشكل مولد إنزيم غير فعال يسمى مولد البلازمين (Plasminogen) (90 ك. دالتون)، وتتعطل أي كميات صغيرة متشكلة فيزيولوجياً من البلازمين في الطور السائل بواسطة الفعل السريع لمثبط البلازمين المسمى مضاد البلازمين ـ ألفا$_2$. ويرتبط مولد البلازمين بالفبرين، وبذلك يصبح منجبلاً في الخثرات عند تشكلها. وبما أن البلازمين الذي يتشكل عند ارتباطه بالفبرين يكون محمياً من مضاد البلازمين ـ ألفا$_2$ فإنه يبقى فعالاً. وتوجد منشطات مولد البلازمين من أنماط مختلفة في معظم أنسجة الجسم، وكلها تعمل على شطر الرابطة Arg-Val نفسها في مولد البلازمين لتعطي بروتياز السيرين ثنائية السلسلة، أي البلازمين (الشكل 59-15).

مفعل مولد البلازمين النسيجي [الألتبلاز (Altepase) ويرمز له "t-PA"]هو بروتيناز سيرين يتحرر في الدوران من البطانة الوعائية في ظروف الأذية أو الكروب ويكون معطلاً تحفيزياً ما لم يرتبط بالفبرين. ويشطر t-PA مولد البلازمين ضمن الخثرة ليشكل البلازمين الذي يعمل بدوره على هضم الفبرين ليشكل نواتج تدرك منحلة، وبذلك يحل الخثرة. ولا يستطيع أي من البلازمين أو مفعل مولد البلازمين أن يبقى مرتبطاً مع نواتج التدرك هذه لذلك فإنهما يتحرران في الطور السائل مما يؤدي إلى تعطيلهما بمثبطاتهما الطبيعية. وتمثل طليعة اليوروكيناز (Prourokinase)

سلف المفعل الثاني لمولد البلازمين، أي اليوروكيناز الذي عزل لأول مرة من البول. أما الآن فبات معروفاً أنه يخلق في أنماط خلوية عديدة كالوحيدات والبلاعم والأرومات الليفية والخلايا الظهارية. وربما يكون الدور الرئيسي لليوروكيناز هو تدرك المطرس خارج الخلوي. ويشير (الشكل 59-16) إلى مواضع عمل خمسة بروتينات تؤثر في تشكل البلازمين وفعله.



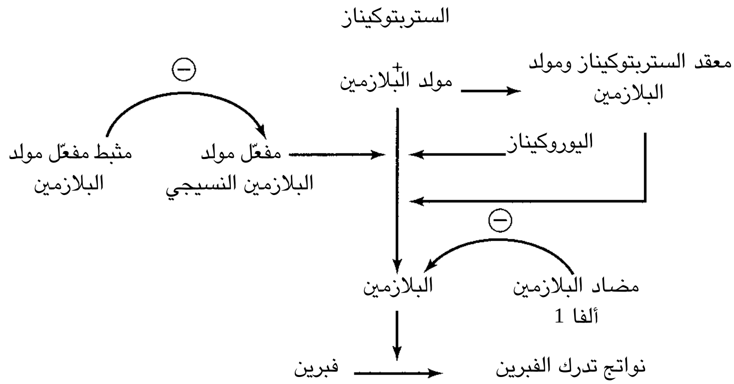
الشكل 59-15 : تنشيط مولد البلازمين. يجري شطر الرابطة Val-Arg نفسها من قبل جميع مفعلات مولد البلازمين ليعطي البلازمين ثنائي السلسلة. ويشير المثلث الأسود إلى ثمالة السيرين في الموقع الفعال. وترتبط سلسلتا البلازمين برابطة ثنائية السلفيد.

يستعمل t-PA المأشوب والستربتوكيناز للتخلص من الخثرة:

يستعمل الألتبلاز (t-PA) المحضر بطريقة الدنا (DNA) المأشوب دوائياً كعامل حال للفبرين، وكذلك الستربتوكيناز. ولكن العامل الثاني أقل انتقائية من t-PA ويفعل مولد البلازمين سواء أكان في الطور السائل (حيث يمكن أن يدرك مولد الفبرين الجوال) أو مرتبطاً بخثرة الفبرين. وقد تتجاوز كمية البلازمين الناتجة عن الجرعات الدوائية للستربتوكيناز سعة مضاد البلازمين ـ ألفا$_2$ الجوال مما يسبب تدرك الفبرين ومولد الفبرين ومن ثم حصول النزف الذي غالباً ما يصادف خلال المعالجة الحالة للفبرين. وبسبب انتقائية t-PA في تدريك الفبرين، فإن لمحضر t-PA المأشوب قيمة علاجية كبيرة في إعادة فتح الشرايين الوعائية بعد الخثار. وإذا تم

إعطاؤه مبكراً بشكل كاف (قبل تأذي عضلة القلب غير القابل للعكس، أي نحو 6 ساعات بعد هجمة الخثار) فإنه يمكن أن يخفف من معدل الوفيات الناجمة عن أذية عضلة القلب بعد الخثار الوعائي. ويقارن (الجدول 59-12) بعض المظاهر الحالة للخثرة لكل من t-PA والستربتوكيناز

هناك عدد من الاضطرابات، بما فيها السرطان والصدمة، تتزايد فيها تراكيز منشطات مولد البلازمين. بالإضافة لذلك، فإن الأنشطة المضادة للبلازمين التي يقوم بها مضاد التريبسين ـ ألفا1 ومضاد البلازمين ـ ألفا2 قد تتعطل في بعض الأمراض مثل التشمع. وبما أن بعض النواتج الجرثومية، كالستربتوكيناز، تكون قادرة على تنشيط مولد البلازمين، فإنها يمكن أن تكون مسؤولة عن النزف المنتشر الملاحظ أحياناً في مرضى العداوى الجرثومية المنتشرة.



الشكل 59-16: مخطط لمواضع عمل الستربتوكيناز ومفعل مولد البلازمين النسيجي واليوروكيناز ومثبط مفعل مولد البلازمين ومضاد البلازمين ألفا2 (يبدي البروتينان الأخيران أفعالاً مثبطة). يشكل الستربتوكيناز معقداً مع مولد البلازمين الذي يبدي نشاطاً حالاً للبروتين؛ وهذا يشطر بعض مولد البلازمين إلى بلازمين مما يبتدئ حل الفبرين.

	SK	t-PA
الانتقائية لخثرة الفبرين	−	+
إنتاج البلازمين في الدم	+	−
إنقاص معدل الوفيات	+	+
حدوث التفاعلات التحسسية	+	−
حدوث انخفاض في الضغط	+	−
كلفة كل معالجة (تقريبية)	400 دولار	2900 دولار

الجدول 59-12: مقارنة خصائص استعمال الستربتوكيناز (SK) ومفعل مولد البلازمين النسيجي t-PA كعوامل حالة للخثرة.

تنشيط الصفيحات يؤدي إلى تحريض سبيل عديد فسفو الإينوزيتيد:

تجول الصفيحات عادة بشكل غير محرض شبيه بالأطباق (Disk) وتصبح خلال عمليتي الإرقاء والتخثر مفعلة لتساهم في تشكيل الخثرات. وخلال تشكل سدادة الإرقاء أو الخثار، يكون على الصفيحات القيام بثلاث عمليات من أجل الإرقاء: (1) الالتصاق بالكولاجين المكشوف في الأوعية الدموية، (2) وتحرير المحتويات من حبيباتها، (3) والتكدس.

تلتصق الصفيحات بالكولاجين عبر مستقبلات نوعية على سطحها تتضمن المعقد البروتيني السكري GPIa-IIa (الإنتجرين $\beta_1\alpha_2$، الفصل 60) في تفاعل يضم عامل فون ويليبراند (von willebrand factor). وهذا الأخير بروتين سكري تفرزه الخلايا البطانية ضمن البلازما، ويثبت العامل VIII، ويرتبط إلى الكولاجين وما تحت البطانة. وترتبط الصفيحات إلى عامل فون ويليبراند عبر معقد بروتين سكري (GPIb-V-IX) على سطح الصفيحات، ويكون هذا التأثر هاماً في التصاق الصفيحات إلى ما تحت البطانة في حالات إجهاد القَصْ (Shear) العالي التي تحصل في الأوعية الصغيرة والشرايين المتصلبة.

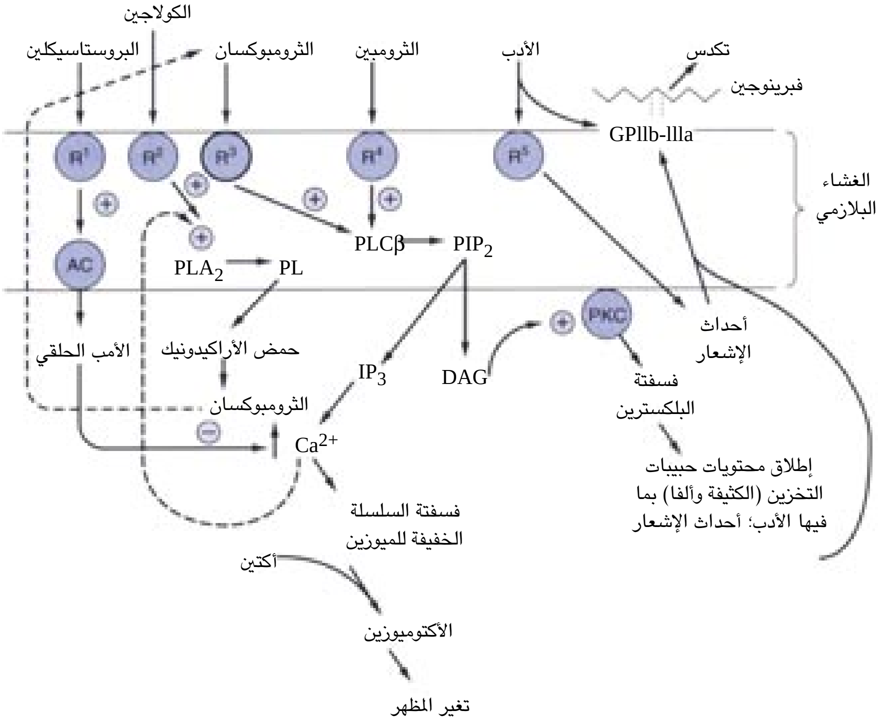
يغير التصاق الصفيحات بالكولاجين مظهر ما تحت البطانة وانتشارها، وتفرز الصفيحات محتوى حبيباتها التخزينية (الحبيبات الكثيفة والحبيبات ألفا). ويتنشط هذا الإفراز بالثرومبين أيضاً.

الثرومبين أقوى منشط للصفيحات، وهو يتشكل من شلال التخثر ويبتدئ عملية تنشيط الصفيحات بتآثره مع مستقبله على سطح الغشاء البلازمي (الشكل 59-17). وتعد الأحداث التالية التي تؤدي إلى تنشيط الصفيحات مثالاً على الإشعار عبر الغشاء، والتي يولد فيها المرسال الكيميائي من خارج الخلية جزيئات فعالة داخل الخلية. وفي هذا السياق، يعمل الثرومبين كمرسال كيميائي خارجي (محرض أو منهض). ويحرض تآثر الثرومبين مع مستقبله نشاط الفسفوليباز Cβ في الغشاء البلازمي. ويحلمه هذا الإنزيم فسفاتيديل الإينوزيتول 5،4 ثنائي الفسفات (PIP_2، عديد الفسفوإينوزيتيد) ليشكل الجزيئين المستفعلين الداخليين: 1، 2 – ثنائي أسيل الجليسيرول و 1، 4، 5 – ثلاثي فسفات الإينوزيتول.

تساهم حلمهة PIP_2 أيضاً في عمل العديد من الهرمونات (الفصل 44) والأدوية، فثنائي أسيل الجليسيرول يحرض كيناز البروتين C التي تفسفت البلكسترين (Pleckstrin)، وهو بروتين صفيحي (47 ك. دالتون) تؤدي فسفتته إلى تكدس محتويات حبيبات الصفيحات الاختزانية وتحررها. ويمكن أن يقوم ADP المتحرر من الحبيبات الكثيفة بتنشيط الصفيحات مما يؤدي إلى تكدس إضافي لها. ويسبب IP_3 إطلاق أيونات الكالسيوم من الجملة النبيبية الكثيفة (أو الشبكة الهيولية الباطنة الملساء) ضمن العصارة الخلوية حيث تتآثر هناك مع الكالمُودُولين وكيناز السلسلة الخفيفة للميوسين مما يؤدي إلى فسفتة السلاسل الخفيفة للميوسين هذه. وتتآثر هذه الخلايا مع الأكتين مسببة تغييراً في شكل الصفيحة.

يؤدي التنشيط المحرض بالكولاجين لفسفوليباز الصفيحات A2 (بالكميات الزائدة من أيونات كالسيوم) إلى تحرر حمض الأراكيدونيك من الشحميات الفسفورية للصفيحات مما يؤدي إلى تشكل الثرومبوكسان A2 (الفصل 25) والذي يمكن بدوره أن يفعل الفسفوليباز C أكثر بطراز تتوسطه المستقبلات محرضاً بذلك تكدس الصفيحات.

وبالإضافة إلى تشكيلها كداسة الصفيحات، تقوم الصفيحات المفعلة من خلال شحمياتها الفسفورية الصاعدية بتسريع تنشيط العاملين X و II في شلال التخثر (الشكل 59-10).



الشكل 59-17: تمثيل تخطيطي لتنشيط الصفيحات. وقد أشير إلى الوسط الخارجي والغشاء البلازمي وداخل الصفيحة من الأعلى إلى الأسفل. ويعد الثرومبين والكولاجين أكثر منشطات الصفيحات أهمية. ويعد الأدب (ADP) ناهضة ضعيفة تسبب التكدس ولكن ليس إطلاق محتوى الحبيبات (GP: بروتين سكري؛ R5 R1 -: مستقبلات مختلفة؛ AC، محلقة الأدينيليل؛ βPLA_2 الفسفوليباز A_2؛ PL: شحميات فسفورية؛ βPLC : الفسفوليباز β C؛ 4 : PIP_2، 5,4– ثنائي فسفات فسفاتيديل الإينوزيتول؛ cAMP: الأمب (AMP) الحلقي؛ PKC: كيناز البروتين C؛ TxA2 :الثرومبوكسان A_2؛ IP_3 : 1، 1، 4 ، 5 – ثلاثي فسفات الإينوزيتول؛ DAG: 1، 2 – ثنائي أسيل الجليسيرول. ولا تظهر البروتينات G المشاركة في الشكل)

وتعمل جميع العوامل المكدسة، بما فيها الثرومبين والكولاجين و ADP وغيرها كالعامل المنشط للصفيحات، على تعديل سطح الصفيحات بحيث يرتبط مولد الفِبرين إلى معقد البروتين السكري GPIIb-IIIa (الإنتجرين $\alpha_{116}\beta_3$) (الفصل 60) على سطح الصفيحات المنشطة. وترتبط جزيئات مولد الفبرين بعد ذلك الصفيحات المنشطة المتجاورة مشكلة بذلك كداسة الصفيحات. وتبدي بعض العوامل، بما فيها الأدرينالين والسيروتونين والڤازوبرسين، تأثيرات تآزرية مع غيرها من العوامل المكدسة.

تخلق الخلايا البطانية البروستاسيكلين والمكونات الأخرى التي تؤثر في التخثر والخثار:

تساهم الخلايا البطانية لجدران الأوعية الدموية مساهمة كبيرة في التنظيم الإجمالي للتخثر والخثار. وكما ذكرنا في (الفصل 25)، تخلق هذه الخلايا البروستاسيكلين (PGI_2)، وهو مثبط فعال لتكدس الصفيحات يعاكس فعل الترومبوكسان A_2. وقد يعمل البروستاسيكلين بتحريض نشاط سيكلاز الأدنيليل في الأغشية السطحية للصفيحات. وتعمل الزيادة الناتجة في الأمب الحلقي (cAMP) داخل الصفيحات على معاكسة تأثير زيادة مستوى أيونات الكالسيوم داخل الخلايا الناجم عن IP_3، وهكذا يتوقف تنشيط الصفيحات (الشكل 59-17). وتلعب الخلايا البطانية دوراً آخر في تنظيم الخثار، فعلى سبيل المثال تحوي هذه الخلايا الأدباز (ADPase) الذي يحلمه الأدب (ADP)، وبذلك تعاكس تأثير الأخير المكدس للصفيحات. وبالإضافة لذلك، يبدو أن هذه الخلايا تخلّق سلفات الهيباران، وهو مضاد تخثر، كما تخلق منشطات مولد البلازمين الذي يمكن أن يساعد على حل الخثرة. ويدرج (الجدول 59-13) بعض المكونات التي تنتجها الخلايا البطانية والتي تؤثر في الخثار وحل الفبرين. وقد نوقش العامل المرخي المشتق من البطانة (أكسيد النتريك) في (الفصل 58).

يعد تحليل آليات قبط البروتينات الشحمية المكونة للعصيدة، مثل LDL، بواسطة العضلات الملساء والخلايا البطانية وخلايا الوحيدات في الشرايين، بالإضافة إلى الدراسة المستفيضة لآلية تخريب هذه البروتينات الشحمية لتلك الخلايا، كل ذلك يعد مفتاح دراسة توضح آليات التصلب العصيدي (الفصل 28).

الجزيء	الفعل
الأدباز (ADPase) (إنزيم نابذ)	يحطم ADP. مفعل لتكدس الصفيحات) إلى Pi+AMP
العامل المرخي المشتق من البطانة (أكسيد النتريك)	يثبط التصاق وتكدس الصفيحات بزيادة مستوى الشكل الحلقي من النوكليوتيد GMP
سلفات الهيباران (جليكوز أمينوجليكان)	مضاد تخثر، يرتبط مع مضاد الثرومبين III لتثبيط الثرومبين
البروستاسيكلين (PGI_2، أحد البروستاجلاندينات)	يثبط تكدس الصفيحات بالمستويات العالية من cAMP
الثرومبومودولين (بروتين سكري)	يربط البروتين C الذي ينشطر بعد ذلك بالثرومبين ليعطي البروتين C المفعل، وهذا الناتج يعمل (مع البروتين S) على تحطيم العاملين Va و VIIIa فيحدان بذلك من عملهما
مفعل مولد البلازمين النسيجي (t-PA، هو أحد البروتيازات)	يحول مولد البلازمين إلى البلازمين الذي يهضم الفبرين، ويعاكس فعل t-PA بمثبط مفعل مولد البلازمين – 1 (PAI-1)

الجدول 13-59: الجزيئات المخلقة من قبل الخلايا البطانية التي تلعب دوراً في تنظيم الخثار وانحلال الفبرين.

الأسبرين دواء فعال كمضاد للصفيحات:

تعمل بعض الأدوية (الأدوية المضادة للصفيحات) على تعديل سلوك الصفيحات، والأسبرين (حمض الخل الصفصافي) هو أكثرها أهمية حيث يحرض الأستلة غير العكسية لجملة لأكسيجيناز الحلقية الصفيحية المشاركة في تشكيل الثرومبوكسان A_2 فيثبطها (الفصل 16). والثرومبوكسان مكدس فعال للصفيحات ومضيق للأوعية أيضاً. والصفيحات حساسة جداً للأسبرين: فحتى بمقادير قليلة تصل إلى 30 مجم / اليوم فقط (مضغوطة الأسبرين تحوي عادة 325 ملج) يقوم الأسبرين بإيقاف تخليق الثرومبوكسان A_2 بشكل فعال. كما يثبط الأسبرين أيضاً إنتاج البروستاسيكلين (PGI_2 الذي يعاكس تكدس الصفيحات، ويعمل كموسع وعائي) من قبل الخلايا البطانية. ولكن بعكس الصفيحات، تعمل هذه الخلايا على تجديد الأكسيجيناز الحلقية خلال عدة ساعات. وهكذا، يمكن للتوازن بكامله القائم بين الثرومبوكسان A_2 والبروستاسيكلين أن ينزاح باتجاه الثاني مما يعاكس تكدس الصفيحات. وبناء عليه، فإن استطبابات المعالجة بالأسبرين تشمل تدبير احتشاء العضلة القلبية في طور التكامل وفي منع السكتة والموت لدى مرضى الهجمات الإقفارية الدماغية العابرة.

تقيس الاختبارات المختبرية التخثر وانحلال الخثرة:

هناك عدد من الاختبارات المختبرية المستخدمة لقياس أطوار الإرقاء الموصوفة سابقاً. وهذه الاختبارات هي تعداد الصفيحات وزمن النزف وزمن الثرومبوبلاستين الجزئي PTT وزمن الثرومبوبلاستين الجزئي المفعل (APTT) وزمن البروثرومبين TT وزمن الثرومبين وتركيز الفبرينوجين وثبات خثرة الفبرين وقياس نواتج تدرك الفبرين. ويقيس تعداد الصفيحات كمياً عدد الصفيحات، وزمن النزف هو قبل كل شيء اختبار للوظيفة الإجمالية للصفيحات. أما APTT فهو قياس للسبيل الداخلي، و PT قياس للسبيل الخارجي. ويستعمل PT لقياس نشاط مضادات التخثر الفموية، مثل الوارفارين، ويستعمل APTT لمراقبة المعالجة بالهيبارين. وعلى القارئ العودة إلى كتب الدمويات لمناقشة هذه الاختبارات.

الخلاصة:

تحوي البلازما العديد من البروتينات ذات الوظائف المتنوعة، ويخلق معظمها في الكبد، وتجري إضافة الجليكوزيل لها بعد ذلك. ويعد الألبومين ـ وهو ليس بروتيناً سكرياً ـ البروتين الرئيسي والمحدد الأساسي للضغط التناضحي داخل الأوعية. وهو يربط أيضاً العديد من اللجائن كالأدوية والبيليروبين. ويربط الهابتوجلوبين جزيئات الهيموجلوبين خارج الكريات فيمنع ضياعه في الكلية والبول، وبذلك يحفظ الحديد ليعاد استعماله. ويربط الترانسفيرين الحديد وينقله إلى المواضع التي تحتاجه. وأما الفرتين فهو مستودع داخل خلوي للحديد. ويعد فقر الدم بعوز الحديد اضطراباً كثير الحدوث. ويحتوي السيرولوبلازمين على كميات مهمة من النحاس، ولكن يبدو أن الألبومين أكثر أهمية في مجال نقل النحاس. وقد وجد أن كلاً من داء ويلسون وداء مينكيس ـ واللذان يدلان على شذوذ في أيض النحاس ـ ينجمان عن طفرات في الجينات المرمزة لإنزيم الأتباز (ATPase) الرابط للنحاس من النمط P. ومضاد التريبسين ـ ألفا$_1$ هو مثبط بروتياز السيرين الرئيسي في البلازما، ويثبط بشكل خاص الإيلاستاز في العدلات. ويسبب العوز الوراثي لهذا البروتين حدوث النفاخ الرئوي، وقد يؤدي إلى مرض كبدي. وأما الجلوبولين الكبروي ـ ألفا$_2$ فهو بروتين بلازمي أساسي يعدل العديد من البروتيازات ويوجه بعض السيتوكينات إلى أعضاء نوعية. وتلعب الجلوبولينات المناعية دوراً أساسياً في آليات الدفاع عن الجسم، كما تفعل بروتينات جملة المتممة، وقد وصفت بعض المظاهر الأساسية لهذه البروتينات.

يعد وقف النزف الدموي (الإرقاء) والخثار عمليات معقدة تساهم فيها عوامل التخثر والصفيحات والأوعية الدموية. والعديد من عوامل التخثر هي مولدات إنزيمات بروتيازات السيرين تصبح مفعلة خلال العملية. ويوجد هناك سبيلان للتخثر، أحدهما داخلي والآخر خارجي، ويبدأ الداخلي بكشف الكولاجين ما تحت البطانة أما الخارجي فيبدأ بالعامل النسيجي. ويلتقي السبيلان عند العامل Xa ليبدأ الطريق النهائي المشترك الذي يؤدي إلى التحول المحفز بالثرومبين للفِبرينوجين إلى فِبرين يتقوى بالربط المتصالب الذي يتوسطه العامل XIII. وتحصل اضطرابات وراثية في عوامل التخثر أكثرها شيوعاً اثنان: عوز العامل VIII (الناعور A)

والعامل IX (الناعور B) ومن بين المثبطات الطبيعية للتخثر، يبرز مضاد الثرومبين III الأكثر أهمية، ويمكن أن يؤدي العوز الوراثي لهذا البروتين إلى الخثار. وتحتاج العوامل X و IX و VII و II والبروتين C و S إلى إضافة الكربوكسيل المعتمد على الڤيتامين K لبعض ثمالات الجلوتامات حتى تتنشط، وهي العملية التي يثبطها مضاد التخثر «الوارفارين». وينحل الفبرين بالبلازمين الذى يوجد بشكل طليعة غير فعالة تدعى مولد البلازمين والذي يمكن تفعيله بمفعل مولد البلازمين النسيجي t-PA. ويستعمل كل من t-PA والستربتوكيناز بشكل واسع لمعالجة الخثارات المبكرة في الشرايين الوعائية. ويسبب الثرومبين وعوامل أخرى تنشيط الصفيحات الذي يشمل مجموعة من الحوادث الكيميائية الحيوية والمورفولوجية. ويعد تحريض سبيل الفسفوليباز C وعديد فسفو الإينوزيتيد الحدث الرئيسي في تنشيط الصفيحات، ولكن تساهم أيضاً عمليات أخرى. والأسبرين هو دواء هام مضاد للصفيحات يعمل من خلال تثبيط إنتاج الثرومبوكسان A_2.

*** References:**

Bennett JS: Mechanisms of platelet adhesion and aggregation: An update, *Hosp Pract (Off Ed)* Apr 1992;27:124.

Broze GJ: Tissue factor pathway inhibitor and the revised theory of coagulation. *Ann Rev Med* 1995;46:103.

Clemetson KJ: Piatelet activation: signal transduction via membrane receptors. *Thromb Haemostas* 1995;74:111.

Collen D,Lijnen HR: Basic and clinical aspects of fibrinolysis and thrombolysis. *Blood* 1991;78:3114.

Handin RI; Anticoagulant, fibrinolytic and antiplatelet therapy. In: *Harrison's principles of Internal Medicine, 14th ed. Fauci AS et al (editors). McGraw-Hill, 1998.*

Handin RI: Disorders of coagulation and thrombosis. In: *Harrison's princibles of Internal Medicine,14th ed Fauci AS et al (editors). McGraw-Hill, 1998.*

Handin RI: Disorders of the platelet and vessel wall, In: *Harrison's Principle of Internal Medicine, 14th ed Fauci As et al (editors). McGraw-Hill,1998.*

Jeneway CA, Travers P: *Immunobiology: the Immune System in Health and Disease*, 3rd ed. Current Biology Ltd& Garland Publishing Company, 1997.

Kroll MH, Schafer AI: Biochemical mechanisms of platelet activation. *Blood* 1989;74:1181.

Levinson W, Jawetz E: *Medical Microbiology and Immunology*,5th ed. Appleton & Lange,1998.

Lomas DA et al: The mechanism of Zα-antitrypsin accumulation in the liver. *Nature* 1992;357:605.

Roberts HR, Lozier JN: New perspectives on the coagulation cascade. *Hosp Pract (Off Ed)* Jan 1992;27:97.

Roth GJ, Calverley DC: Aspirin, Platelets, and thrombosis Theory and practice. *Blood* 1994;83:885.

Schmaier AH: contact activation : A revision. *Thromb Haemost* 1997;78:101.

Whicher JT. Abnormalities of plasma proteins. In: *Scientific Foundations of Biochemistry in Clinical Practice* 2nd ed . Williams DL, Marks V (editors). Butterworth Heinemann,1994.

Worwood M: Disorders of iron metabolism In: *Scientific Foundations of Biochemistry in Clinical Practice* 2nd ed. Williams DL, Marks V (editors) Butterworth *Heine mann,* 1994.

Wu KK: Endothelial cells in hemostasis, thrombosis and inflammation. *Hosp Pract (Off Ed)* Apr 1992;27:145.

Zimmernam GA et al: Antagonists, Terminators, Molecular mimics and microbial opportunism. *J Int Med* 1996;239:433.

الفصل الستون

كريات الدم الحمراء والبيضاء

Red and White Blood Cells

مقدمة:

يتكون الدم من البلازما وخلايا مختلفة. وقد وصفنا بعض البروتينات البلازمية في (الفصل 59)، وأما هنا فسندرس الملامح الكيميائية الحيوية الرئيسية للكريات الحمراء ولصنف واحد من الكريات البيض هو العدلات (Neutrophils). ويمكن وضع الكريات البيضاء في ثلاث مجموعات هي: المحببات والوحيدات واللمفاويات.

المحببات (Granulocytes) (تدعى أيضاً الكريات البيضاء المفصصة (PMNs)، لأن نواها متعددة الفصوص)، وهي تحتوي على يحلولات وحبيبات عديدة (حويصلات إفرازية)، وتقسم إلى ثلاثة أصناف (العدلات والأسسات [القعدات] واليوزينيات [الحمضات])، ويتم تمييز هذه الأصناف بمورفولوجيتها وخصائص تلون حبيباتها. وتقوم العدلات ببلعمة الجراثيم، وتلعب دورا كبيراً في الالتهاب الحاد. أما الأسسات (Basophils) التي تماثل الخلايا البدينة (Mast Cells) فتحتوي على الهيستامين والهيبارين وتساهم في بعض أنماط تفاعلات فرط التحسس المناعية. وتساهم اليوزينيات أو الحمضات (Eosinophils) في بعض التفاعلات الأرجية (Allergic) والعداوى الطفيلية.

والوحيدات (Monocytes) هي طلائع البلاعم (Macrophage) وتساهم كالعدلات مساهمة كبيرة في البلعمة.

وتصنف اللمفاويات (Lymphocytes) إلى لمفاويات بائية B أو تائية T. وتركب

اللمفاويات البائية الأضداد (الفصل 59) بينما تلعب اللمفاويات التائية أدواراً كبيرة في مختلف الآليات المناعية الخلوية كقتل الخلايا المعداة بالڤيروسات وكذلك بعض الخلايا السرطانية، وعلى القارئ العودة إلى مراجع المناعة للوقوف على المزيد من التفاصيل. وتشكل العدلات واللمفاويات إلى حد بعيد الصنفين الرئيسيين للكريات البيضاء في الدم السوي.

وقد شرحنا دور الصفيحات في التخثر في (الفصل 59)، ولن ندرسه أكثر من ذلك هنا. ويعد تمايز خلايا الدم من الخلايا الجذعية (Stem Cells) موضوعاً هاماً سنشير إليه باختصار في هذا الفصل، وعلى القارئ العودة إلى مراجع الهيستولوجيا أو البيولوجيا الخلوية أو أمراض الدم لتغطية هذه المواضيع بشكل كامل.

الأهمية الطبية البيولوجية:

لقد درست خلايا الدم بشكل واسع لأنه من السهل الحصول عليها ولأهميتها الوظيفية ومساهمتها في الكثير من العمليات المرضية. وقد ناقشنا في فصول سابقة بنية الهيموجلوبين ووظيفته وأمراض البرفيرية واليرقان والأوجه الأخرى لأيض الحديد. ويعد نقص عدد خلايا الدم الحمراء ومحتواها من الهيموجلوبين السبب في أمراض فقر الدم ومجموعة متنوعة وهامة من الاضطرابات يصادف بعضها كثيراً في الممارسة السريرية. وتعد بعض أنظمة زمر (فصائل) الدم التي توجد على أغشية الكريات الحمراء وخلايا الدم الأخرى ذات أهمية فائقة فيما يتعلق بنقل الدم وزرع الأنسجة. ويلخص (الجدول 60-1) أسباب عدد من الأمراض الهامة التي تصيب كريات الدم الحمراء، سندرس بعضاً منها في هذا الفصل أما الباقي فقد درس في مواضع أخرى من هذا الكتاب. ويمكن أن يتأثر أي عضو في الجسم بالالتهاب، وتلعب العدلات دوراً مركزياً في الالتهاب الحاد، وتلعب الكريات البيضاء الأخرى كاللمفاويات دوراً هاماً في الالتهاب المزمن. ويمكن أن تصيب ابيضاضات الدم ـ التي تعد أوراماً خبيثة في الأنسجة المكونة للدم ـ أياً من الخلايا السليفة لأي من الرتب الرئيسية لخلايا الدم البيضاء، وتضم الأنماط الشائعة منها ابيضاض

الدم النقوي الحاد والنقوي المزمن اللذين يصيبان سلائف العدلات، وابيضاض الدم اللمفاوي الحاد واللمفاوي المزمن. ولقد تبين أن المعالجة الكيميائية المشتركة، باستعمال توليفات من عوامل كيميائية علاجية مختلفة يعمل كل منها عند موضع كيميائي حيوي أو أكثر، فعالة بشكل ملحوظ في معالجة بعض هذه الأنماط من ابيضاض الدم. ويتطلب فهم دور الكريات الحمراء والبيضاء في الصحة والمرض المعرفة ببعض الأوجه الأساسية للكيمياء الحيوية الخاصة بها.

الكرية الحمراء بسيطة البنية والوظيفة:

تعد الوظائف الأساسية للكرية الحمراء بسيطة نسبيا، تشمل إيصال الأكسجين إلى الأنسجة والمساعدة على طرح ثاني أكسيد الكربون والبروتونات المتشكلة من الأيض النسيجي. ولذلك فهي تتمتع ببنية بسيطة أكثر بكثير من معظم الخلايا البشرية بحيث تتكون بشكل رئيسي من غشاء يحيط بمحلول الهيموجلوبين (يشكل هذا البروتين نحو 95٪ من البروتينات داخل الكرية الحمراء). وليس هناك عضيات داخل الخلية، مثل المتقدرات أو اليُحلولات أو جهاز جولجي. وتكون الكريات الحمراء البشرية، مثل معظم الكريات الحمراء في الحيوانات غير منواة. ولكنها ليست عاطلة أيضياً فهي تخلق الأتب (ATP) من تحلل السكر ليلعب دوره الهام في العمليات التي تساعد الكرية الحمراء على حفظ شكلها مقعر الوجهين وعلى تنظيم نقل الأيونات (بواسطة أتباز الصوديوم والبوتاسيوم و بروتين تبادل الأنيونات [انظر لاحقاً] مثلاً) والماء من الخلية وإليها. ويزيد الشكل المقعر الوجهين نسبة سطح الكرية الحمراء إلى حجمها، وبذلك يسهل تبادل الغاز. وتحتوي الكرية الحمراء على مكونات خلوية هيكلية (انظر لاحقاً) تلعب دوراً هاماً في تعين شكلها.

الاضطراب	السبب الوحيد أو الرئيسي
فقر الدم بعوز الحديد	نقص مدخول الحديد أو فرط خسارته
وجود الميتهيموجلوبين في الدم	تناول الكثير من المؤكسدات (مواد كيميائية ودوائية مختلفة) عوز وراثي في جملة مختزلة الميتهيموجلوبين المعتمدة على التميم NADH (MIM 250800) وراثة HbM (MIM 141800)
فقر الدم المنجلي (MIM 141900)	تغير التسلسل الخاص بالرامزة 6 في سلسلة الجلوبين بيتا من GAG في الجين السوي إلى GTG في جين الخلية المنجلية مما يؤدي إلى استبدال حمض الجلوتاميك بالڤالين .
أمراض الثلاسيميّة ـ ألفا (MIM 141800)	طفرات في جينات الجلوبين ألفا لا سيما التعابر غير المتساوي والأخبان الكبيرة، وبشكل أقل شيوعا وجود طفرات خائبة وطفرات إزاحة الإطار
الثلاسيمية بيتا (MIM 141900)	ضروب واسعة جدا من الطفرات في جين الجلوبين بيتا بما في ذلك الخبن والطفرات الخائبة وطفرات إزاحة الإطار وطفرات أخرى تؤثر في أيٍّ من مظاهر بنيته (مثل مواضع التضفير وطفرات المِعزاز)
فقر الدم بالأرومات الكبيرة عوز الڤيتامين B_{12}	نقص امتصاص B_{12}، غالبا بسبب عوز العامل الداخلي، الذى يفرز عادة من الخلايا الجدارية المعدية
عوز حمض الفوليك	نقص مدخول الفولات أو الامتصاص المعيب أو زيادة الحاجة (كما في الحمل)
كثرة الكريات الحمر الكروية الوراثية[1]	نقص كمية أيٍّ من السبكترين ألفا أو بيتا أو الأنكيرين أو الشريط 3 أو الشريط 1، 4 أو خلل في بنيتها
عوز نازعة هيدروجين الجلوكوز –6– فوسفات [1] (G6PD)(MIM 305900)	ضروب مختلفة من الطفرات في جين G6PD (مرتبطة بالكروموسوم X) وهي طفرات نقطية مفردة غالباً
عوز كيناز البيروڤات[1] (MIM255200)	ربما ضروب مختلفة من الطفرات في جين النظير R (الكرية الحمراء) لكيناز البيروڤات PK
بيلة الهيموجلوبين الليلية الانتيابية[1] (MIM 311770)	طفرات في جين PIG-A تؤثر في تخليق البروتينات المثبتة بالجليكوزيل فسفاتيديل الإينوزيتول (GIP)

الجدول 60-1 : ملخص لأسباب بعض الاضطرابات الهامة التي تصيب الكريات الحمراء

1 – تؤدي الاضطرابات الأربعة الأخيرة إلى فقر الدم الانحلالي، وكذلك عدد من الاضطرابات الأخرى المذكورة. وقد درسنا معظم الحالات المذكورة في فصول أخرى من هذا الكتاب وتمنح أرقام MIM للاضطرابات ذات الأساس الوراثي فقط.

يدخل نحو مليونين من الكريات الحمراء في الدوران كل ثانية:

يبلغ تعداد الكريات الحمر في الحالة السوية في الذكور 4.6-6.6 مليون/مكل، ونحو 4.2-5.4 مليون /مكل في النساء. ويبلغ العدد الإجمالي للكريات الحمراء في الدوران نحو 2.5×10^{13}. أما المستوى السوي للهيموجلوبين فهو 14-18 جرام /100 مل في الرجال و 12-16 جرام /100 مل في النساء. وتكون قيم الهيماتوكريت (حجم الكريات الحمراء المفصولة) في الرجال والنساء هي 42-52 ٪ و 37-47٪ على الترتيب. وأما متوسط عمر الكرية الحمراء السوية فهو 120 يوماً، وهذا يعني أن أقل من نحو 1٪ من مجموع الكريات الحمراء بقليل أي (200 بليون خلية أو 2 مليون خلية في الثانية) يستبدل يومياً. وتحتوي الكريات الحمر الجديدة التي تظهر في الدوران على الجسيمات الريبية وعناصر من الشبكة الهيولية الباطنة. ويمكن كشف رنا الريباسات بالملونات المناسبة (مثل زرقة الكريزيل)، وتدعى الكريات التي تحتوي عليها باسم الشبكيات (Reticulocytes) ويكون عددها السوي نحو 1٪ من إجمالي تعداد الكريات الحمراء. وقد ينقص متوسط عمر الكرية الحمراء بشكل ملحوظ في ضروب مختلفة من حالات فقر الدم الانحلالي. ويزداد عدد الشبكيات بوضوح في هذه الحالات لأن نقي العظام يحاول التعويض عن التحطم السريع للكريات الحمراء بزيادة مقدار الكريات الحمر الفتية الجديدة في الدوران.

ينظم الإريثروبويتين إنتاج الكريات الحمراء:

الإريثروبويتين (Erythropoietin) البشري هو بروتين سكري مؤلف من 166 حمضاً أمينياً (الكتلة الجزيئية 34 ك. دالتون تقريباً). ويمكن قياس كميته في البلازما بالمقايسة المناعية الشعاعية، وهو المنظم الرئيسي لتكون الكريات الحمر في الإنسان. وقد أمكن عزل cDNA المرمز للإريثروبويتين وتعيين تسلسله. ويتركب الإريثروبويتين بشكل رئيسي في الكلية ويتحرر استجابة لنقص الأكسجة في مجرى الدم ويتجه نحو نقي العظام. وهناك، يتآثر مع سلائف (Progenitors) الكريات الحمراء بواسطة مستقبلة نوعية. وهذا المستقبل هو بروتين عابر للغشاء مكون من وحيدتين مختلفتين وعدد من الحقول ولا يملك فعالية كيناز التيروزين لكنه ينبه

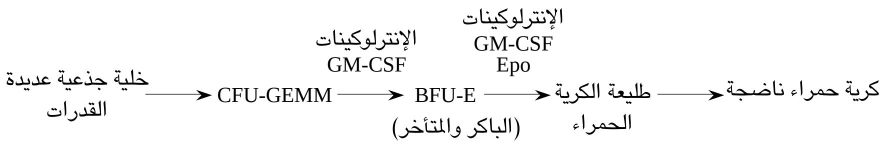
أنشطة عناصر نوعية في هذه الرتبة من الإنزيمات المساهمة في تنبيغ الإشارة (انظر الفصل 44). ولم تُعرف بعد هوية المرسال الثاني والجينات النوعية المتأثرة في الخلايا الهدف. ويتآثر الإريثروبويتين مع سلف للكرية الحمراء يدعى باسم الوحدة الحمرائية المكونة للهبة (Burst-forming unit-erythroid ;PFU-E)، مؤدياً إلى تكاثرها وتمايزها. كما أنه يتآثر مع سلف لاحق للكرية الحمراء يدعى الوحدة المحمرة المكونة للمستعمرة CFU-E، وهذا يؤدي أيضاً إلى تكاثرها وتمايزها أكثر. ويتطلب الإريثروبويتين لإنجاز هذه التأثيرات تعاون عوامل أخرى (مثل الإنترلوكين – 3 وعامل النمو الشبيه بالإنسولين، الشكل 60-1).

لقد سمح توفر cDNA للإريثروبويتين بإنتاج كميات هامة من هذا الهرمون بهدف الدراسة والعلاج، وأما عزل الإريثروبويتين من بول الإنسان فكان يسمح سابقا بالحصول على مقادير صغيرة جدا من البروتين. ويتجلى الاستعمال الأساسي للإريثروبويتين المأشوب في معالجة عدد صغير من حالات فقر الدم كتلك الناجمة عن القصور الكلوي.

تنظم عدة هرمونات إنتاج الكريات البيضاء:

لقد تم التعرف على عدد كبير من عوامل النمو المكونة للدم في السنوات الأخيرة بالإضافة إلى الإريثروبويتين. وأضاف هذا إلى معرفتنا عن تمايز خلايا الدم وساهم في توفير العوامل التي يمكن أن تفيد في المعالجة، وكذلك في فهم النمو الشاذ لخلايا الدم (مثل ابيضاض الدم). وقد تبين أن معظم عوامل النمو المعزولة، مثل الإريثروبويتين، بروتينات سكرية فعالة جداً في الكائن الحي وفي المختبر، وتتآثر مع خلاياها المستهدفة بواسطة مستقبلات نوعية على السطح الخلوي، وتؤثر في نهاية المطاف (بواسطة إشارات إلى داخل الخلايا) في التعبير الجيني، ومن ثم تعزز التمايز. وقد أمكن تنسيل الكثير منها مما سمح بإنتاجها بمقادير كبيرة نسبياً. ويعد كل من العامل المنبه لمستعمرات المحببات والعامل المنبه لمستعمرات المحببات والبلاعم (G-CSF و GM-CSF على الترتيب) من العوامل ذات الأهمية الخاصة. ويكون G-CSF نوعياً نسبياً يحرض المحببات بشكل رئيسي. وأما GM-CSF فيؤثر

في ضروب مختلفة من الأسلاف، ويحرض المحببات والبلاعم والحمضات. وتسمى حالة انخفاض إنتاج العدلات باسم قلة العدلات (Neutropenia)؛ ومن المحتمل أن تظهر بشكل خاص في المرضى المعالجين ببعض أنظمة العلاج الكيميائي وبعد زرع نقي العظام. وهؤلاء المرضى معرضون لخطر الإصابة بعداوى خطرة. وقد تم إعطاء G-CSF لهؤلاء المرضى لتعزيز إنتاج العدلات، وأشارت بعض الدراسات إلى فائدته. ومن الأمور المثيرة للاهتمام أنه إذا أعطي G-CSF للمرضى الذين حدثت لديهم قلة عدلات شديدة خلال معالجة ابيضاض الدم فقد ينبه نمو الخلايا الابيضاضية. وتشير الأبحاث الحديثة إلى أن هذه المشكلة قد لا تحدث إذا بقيت جرعات G-CSF منخفضة، لكن يبقى الحذر مطلوباً.



الشكل 60-1 : مخطط مبسط جداً لتمايز الخلايا الجذعية إلى كريات حمراء. تساهم الإنترلوكينات (IL) المختلفة (IL-3 و IL-4 و IL-9 و IL-11) في خطوات مختلفة من العملية الإجمالية. وتشتمل طلائع الكريات الحمراء على طليعة الأرومة السوية والأرومات السوية القعدة وعديدة الاصطباغ وسوية الاصطباغ والشبكيات. ويعمل العامل Epo على الأرومات السوية القعدة، وليس على طلائع الحمر المتأخرة (CFU-GEMM: الوحدة المشكلة للمستعمرات التي تعطي خلاياها المحببات والكريات الحمر والبلاعم والنواءات؛ BFU-E: الوحدة المكونة للهبة المحمرة؛ GM-CSF: العامل المنبه لمستعمرات المحببات والبلاعم؛ Epo: الإريثروبويتين؛ RBC: كرية الدم الحمراء).

تتصف الكرية الحمراء بأيض متميز وبسيط نسبيا:

يلخص (الجدول 60-2) مختلف أوجه أيض الكرية الحمراء التي درس الكثير منها في فصول أخرى من الكتاب.

تحوي الكرية الحمراء ناقلاً للجلوكوز في غشائها:

يدخل الجلوكوز إلى الكريات الحمراء بمعدلٍ أكبر بكثير من أن نعزوه للانتشار البسيط. وبدلاً من ذلك يتم دخول الجلوكوز إلى الخلية بواسطة الانتشار الميسر (الفصل 43). ويدعى البروتين النوعي المساهم في هذه العملية باسم ناقل الجلوكوز أو بيرمياز الجلوكوز (يلخص الجدول 60-3 بعض خصائصه). وتعد عملية دخول الجلوكوز إلى الكرية الحمراء ذات أهمية كبيرة لأنه الوقود الأساسي لهذه الخلايا. وقد تم عزل نحو 7 نواقل مختلفة للجلوكوز وذلك من مختلف الأنسجة، وعلى النقيض من الناقل في الكرية الحمراء يكون بعض هذه النواقل معتمدا على الإنسولين (كما في العضل والنسيج الدهني) وهناك اهتمام كبير بالأنماط الأخيرة من النواقل لأن خلل استنفارها من المواضع داخل الخلية إلى سطح الخلايا العضلية الهيكلية قد يساعد في تفسير المقاومة للإنسولين التي يبديها المصابون بالداء السكري غير المعتمد على الإنسولين (الفصل 51).

تكون الشبكيات فعالة من ناحية التخليق البروتيني:

لا تستطيع الكرية الحمراء الناضجة تخليق البروتين على عكس الشبكيات تماماً. وعندما تدخل الشبكيات الدوران تفقد عضياتها داخل الخلوية (الريباسات، المتقدرات...إلخ) في غضون 24 ساعة تقريباً، وتصبح كريات حمراء فتية فاقدة في الوقت نفسه قدرتها على تخليق البروتين. وتستخدم خلاصات الخلايا الشبكية للأرانب (التي يحصل عليها بحقن الأرانب بمادة كيميائية (فينيل الهيدرازين) التي تؤدي إلى فقر دم انحلالي شديد، بحيث تستبدل الكريات الحمر بالشبكيات بشكل كامل تقريبا) على نطاق واسع كجملة مختبرية لتخليق البروتينات. وتخرب جزيئات الرنا المرسال داخلية المنشأ الموجودة في هذه الشبكيات باستعمال النوكلياز التي يمكن تثبيط نشاطها بإضافة أيونات الكالسيوم، ثم تبرمج الجملة بإضافة جزيئات الرنا المرسال المنقاة أو خلاصات خلوية كاملة لجزيئات الرنا المرسال وتصنع بروتينات مشعة بوجود الميثيونين المياسر الموسوم بالعنصر ^{35}S أو أحماض أمينية أخرى موسومة شعاعياً. وتفصل البروتينات المشعة المصنعة بطريقة SDS-PAGE وتكشف بالتصوير الشعاعي الذاتي.

* تعتمد الكرية الحمراء كثيراً على الجلوكوز كمصدر لطاقتها، ويحتوي غشاؤها على نواقل ذات ألفة عالية للجلوكوز. * تخلق الأتب (ATP) بواسطة تحلل السكر المنتج للاكتات. * لا تنتج الكريات الحمراء الأتب بالفسفتة الأكسدية لعدم وجود المتقدرات فيها. * تحتوي الكرية الحمراء على أنواع مختلفة من النواقل تحافظ على توازن الأيونات والماء. * يكون إنتاج 2 ، 3 – ثنائي فسفو الجليسيرات (بتفاعلات مرتبطة ارتباطا وثيقا بتحلل السكر) هاماً في تنظيم قدرة الهيموجلوبين على نقل الأكسجين. * يعمل سبيل البنتوز فسفات في الكرية الحمراء (يستقلب نحو 5-10٪ من دخل الجلوكوز الكلي) وينتج NADPH. ويشيع فقر الدم الانحلالي الناجم عن عوز نشاط نازعة هيدروجين الجلوكوز –6– فسفات. * الجلوتاثيون المختزل (GSH) هام لأيض الكرية الحمراء، ويأتي جزء من هذه الأهمية من دوره في معاكسة فعل البيروكسيدات ذات السمية الكامنة. ويمكن أن تخلق الكرية الحمراء الجلوتاثيون، وهي تحتاج NADPH لإعادة تحويل الجلوتاثَيون المؤكسد (G-S-S-G) إلى حالته المختزلة. * يجب الحفاظ على حديد الهيموجلوبين بحالة الحديدوز (ثنائي التكافؤ)، ويختزل الفيريك (ثلاثي التكافؤ) إلى حالة الحديدوز بواسطة الجملة المختزلة للميتهيموجلوبين المعتمدة على NADH والتي تشمل مختزلة السيتوكروم b5 والسيتوكروم b5. * لا يحدث تخليق الجليكوجين والأحماض الدهنية والبروتين والأحماض النووية في الكرية الحمراء، ولكن يمكن تبادل بعض الشحميات (مثل الكوليسترول) بين غشاء الكرية الحمراء وشحميات بلازمية موافقة. * تحتوي الكرية الحمراء على بعض إنزيمات أيض النوكليوتيد (مثل نازعة أمين الأدينوزين وإنزيمات نوكليوتيداز البيريميدين وكيناز الأدينيليل) وتساهم أعواز هذه الإنزيمات في بعض حالات فقر الدم الانحلالي. * عندما تصل الكريات الحمراء نهاية عمرها، يتدرك الجلوبين إلى أحماض أمينية (يعاد استخدامها في الجسم) ويتحرر الحديد من الهيم ويعاد استخدامه ويتحول رباعي البيرول إلى بيليروبين يفرغ بشكل رئيسي في الأمعاء بواسطة الصفراء.

الجدول 2-60 : ملخص للنواحي الهامة للأيض في الكريات الحمراء.

يقوم ديسموتاز فوق الأكسيد والكاتالاز والجلوتاثيون بحماية خلايا الدم من الكرب التأكسدي والأذية:

تنتج عدة مؤكسدات (Oxidant) فعالة في سياق الأيض الجاري في كل من خلايا الدم ومعظم خلايا الجسم الأخرى. وتشتمل هذه المؤكسدات على فوق الأكسيد (O_2-•) وبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) وجذور البيروكسيل (ROO•) وجذور الهيدروكسيل (OH•). ويكون الأخير شديد التفاعلية بشكل خاص ويمكن أن يتفاعل مع البروتينات والأحماض النووية والشحميات والجزيئات الأخرى لتغيير بنيتها وإحداث أذية نسيجية. وتلعب التفاعلات المدرجة في (الجدول 60-4) دوراً هاماً في تشكيل هذه المؤكسدات والتخلص منها وسندرس فيما يلي كلاً من هذه التفاعلات بحسب دوره.

* يشكل نحو 2٪ من بروتينات غشاء الكرية الحمراء.
* يبدي نوعية للجلوكوز والهكسوزات اليمينية ذات الصلة (لا تنقل الهكسوزات المياسرة).
* يقوم الناقل بوظيفته بمعدل 75٪ من سرعته الأعظمية (V_{max}) تقريباً في التركيز الفيزيولوجي لجلوكوز الدم، وهو قابل للإشباع ويمكن تثبيطه ببعض مضاهئات الجلوكوز.
* لقد تم حتى اليوم كشف سبعة نواقل متشابهة (لكنها متمايزة) للجلوكوز في أنسجة الثدييات، ومن بينها الناقل الموجود في الكريات الحمراء.
* غير معتمد على الإنسولين بخلاف الناقل الموجود في العضل والنسيج الدهني.
* تم تعيين التسلسل الكامل لأحماضه الأمينية (492 حمضاً أمينياً).
* ينقل الجلوكوز عندما يقحم في الجسيمات الشحمية التخليقية.
* يقدر بأنه يحتوي على 12 شدفة حلزونية عبر الغشاء.
* يعمل من خلال توليد مسم مبوب (Gated pore) في الغشاء للسماح بمرور الجلوكوز، ويكون المسم معتمداً شكلياً على وجود الجلوكوز ويتذبذب بسرعة (نحو 900 مرة /ثانية).

الجدول 60-3: بعض خصائص ناقل الجلوكوز في غشاء الكرية الحمراء.

(1) إنتــاج فــوق الأكــســيــد (ناتج جــانبي لتفاعلات مختلفة).	$O_2 + e^- \rightarrow O_2^{-\bullet}$
(2) أكسيداز NADPH.	$2O_2 + NADPH \rightarrow 2\ O_2^{-\bullet} + NADP + H^+$
(3) ديسموتاز فوق الأكسيد.	$O_2^{-\bullet} + O_2^{-\bullet} + 2\ H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
(4) الكاتالاز.	$H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$
(5) البيروكسيداز النقوية.	$H_2O_2 + X^- + H^+ \rightarrow HOX + H_2O (X^- = Cl^-, Br^-, SCN^-)$
(6) بيروكسيداز الجلوتاثيون (المعتمدة على السيلينيوم).	$2GSH + R\text{-}O\text{-}OH \rightarrow GSSG + H_2O + R\ OH$
(7) تفاعل فنتون.	$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\bullet} + OH^-$
(8) تفــاعل هـابر ـ ڤــايس (Haber -Weiss) المحفز بالحديد.	$O_2^{-\bullet} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + OH^{\bullet} + OH^-$
(9) نازعة هيدروجين الجلوكوز –6– فسفات (G6PD).	G6P + NADP → 6Phosphogluconate + NADPH + H+
(10) مختزلة الجلوتاثيون	G-S-S-G + NADPH + H^+ → 2GSH + NADP

الجدول 4-60: التفاعلات الهامة في علاقتها مع الكَرْب التأكسدي في خلايا الدم والأنسجة المختلفة

يتشكل فوق الأكسيد (التفاعل 1) في الكرية الحمراء بالأكسدة الذاتية للهيموجلوبين إلى ميتهيموجلوبين (يخضع نحو 3 ٪ من الهيموجلوبين في الكريات الحمراء البشرية للأكسدة الذاتية كل يوم)، وأما في الأنسجة الأخرى فيتشكل بفعل إنزيمات مثل مختزلة السيتوكروم P450 وأكسيداز الزانثين. وتبدي العدلات عند تنبيهها بالتماس مع الجراثيم هبة تنفسية (انظر لاحقاً) وتنتج فوق الأكسيد في تفاعل تحفزه أكسيداز NADPH (التفاعل 2). يتطافر فوق الأكسيد بشكل تلقائي لتشكيل H_2O_2 و O_2 ولكن يتسرع معدل هذا التفاعل نفسه بشكل هائل بوجود إنزيم ديسموتاز فوق الأكسيد (التفاعل 3). ويخضع بيروكسيد الهيدروجين لعدة مصائر، فإنزيم الكاتالاز (Catalase) الموجود في عدد من الأنماط الخلوية يحوله إلى ماء وأكسجين جزيئي (التفاعل 4) وتمتلك العدلات إنزيماً متميزاً هو البيروكسيداز النقوية (Myeloperoxidase) التي تستخدم الماء والهاليدات (Halides) لإنتاج أحماض تحت هاليدية (Hypohalous) (التفاعل 5) تبقى وسندرس هذا الموضوع بتفصيل أكثر لاحقاً. كما يعمل إنزيم بيروكسيداز الجلوتاثيون المحتوي على السيلينيوم (الفصل 22) على الجلوتاثيون المختزل GSH و H_2O_2 لإنتاج الجلوتاثيون المؤكسد (GSSG) والماء (التفاعل 6) كما يمكن أن يستعمل هذا الإنزيم بيروكسيدات أخرى كركائز. وقد يتشكل OH^- و $OH^•$ من H_2O_2 في تفاعل غير إنزيمي يحفزه Fe^{2+} (تفاعل فنتون، التفاعل 7). ويكون $O_2^{\bar{•}}$و H_2O_2 ركيزتين في تفاعل هابر ـ ڤايس المحفز بالحديد (التفاعل 8) والذي ينتج أيضا OH^- و $OH^•$. ويمكن أن يطلق فوق الأكسيد أيونات الحديد من الفريتين. وهكذا يكون إنتاج $OH^•$ أحد الآليات المساهمة في الأذية النسيجية الناجمة عن فرط حمل الحديد (مثل داء ترسب الأصبغة الدموية، الفصل 65).

ويمكن أن تسمى المركبات الكيميائية والتفاعلات القادرة على توليد أنواع من الأكسجين ذات السمية الكامنة باسم طلائع المؤكسدات (Pro-oxidant). أما مضادات الأكسدة (Antioxidants) فهي المركبات والتفاعلات التي تتعامل مع هذه الأنواع أو تكسحها (تكنسها: Scavengig) أو تثبط تشكيلها أو تعاكس أفعالها، وتشتمل على مركبات مثل GSH و NADPH وحمض الأسكوربيك والڤيتامين E.

وتحافظ الخلية السوية على توازن مناسب بين طلائع المؤكسدات ومضادات الأكسدة؛ ولكن قد ينزاح هذا التوازن نحو طلائع المؤكسدات عندما يزداد إنتاج أنواع الأكسجين بشكل كبير (بعد تناول بعض المواد الكيميائية أو الأدوية مثلا) أو عندما تنقص مستويات مضادات الأكسدة (بتعطيل الإنزيمات المساهمة في التعامل مع أنواع الأكسجين أو بالحالات التي تؤدي إلى نقص مستويات مضادات الأكسدة المذكورة سابقاً). وتدعى هذه الحالة «الكرب التأكسدي» (Oxidative stress)، ويمكن أن تؤدي إلى أذية خلوية خطيرة إذا كان الكرب شديداً أو مديداً.

يعتقد الآن أن أنواع الأكسجين تساهم بدور هام في الكثير من أنماط الأذية الخلوية (كتلك الناجمة عن تطبيق مواد كيميائية سمية مختلفة أو عن الإقفار) ويؤدي بعضها إلى موت الخلية. وتأتي الدلائل غير المباشرة على دور هذه الأنواع في إحداث الأذية الخلوية عندما نجد أن إعطاء إنزيمات مثل ديسموتاز فوق الأكسيد أو الكاتالاز يؤدي إلى الوقاية من أذية الخلية في الحالات المدروسة.

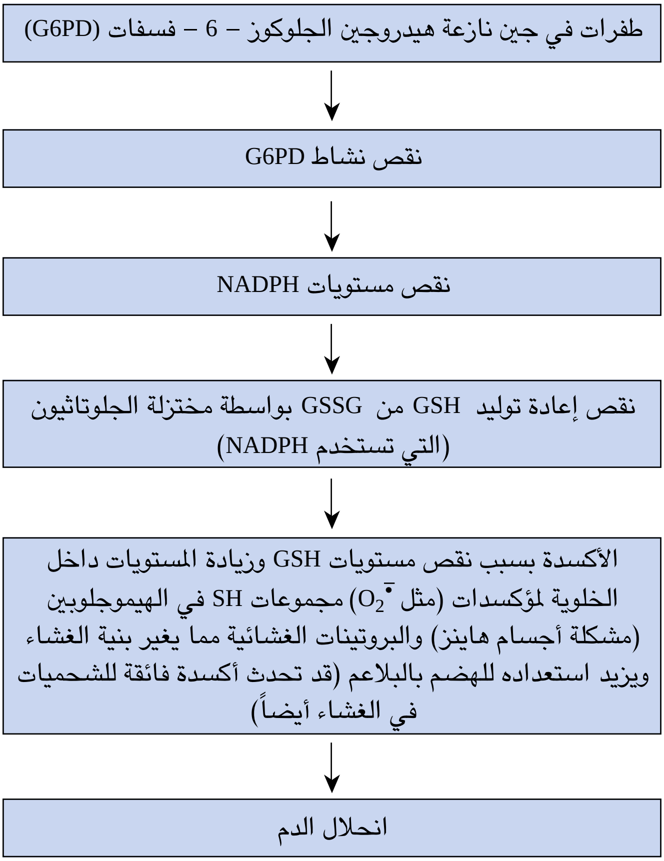
يشيع عوز نازعة هيدروجين الجلوكوز – 6 – فسفات في بعض المناطق ويشكل سبباً هاماً لفقر الدم الانحلالي:

يلعب NADPH المنتج في التفاعل الذي تحفزه نازعة هيدروجين الجلوكوز ـ 6 ـ فسفات المرتبطة بالكروموسوم X (الجدول 60-4؛ التفاعل 9) في سبيل فسفات البنتوز (الفصل 22) دوراً أساسياً في الإمداد بالمكافئات المختزلة في الكرية الحمراء والخلايا الأخرى كالخلية الكبدية. وبما أن سبيل فسفات البنتوز هو الوسيلة الوحيدة لإنتاج NADPH، تكون الكرية الحمراء حساسة جداً تجاه الأذية الأكسدية عندما تضطرب وظيفة هذا السبيل (بسبب عوز الإنزيم مثلاً). ومن وظائف NADPH اختزال GSSG إلى GSH في تفاعل تحفزه مختزلة الجلوتاثيون (التفاعل 10). إن عوز نشاط نازعة هيدروجين الجلوكوز ـ 6 ـ فسفات (الناجم عن طفرة) شائع جداً في بعض مناطق العالم (مثل أفريقيا الاستوائية والبحر المتوسط وبعض أجزاء أسيا وفي أمريكا الشمالية بين الزنوج). كما أنه أكثر الاعتلالات الإنزيمية (أي الأمراض الناجمة عن شذوذات الإنزيمات) شيوعاً، وقد كشف أكثر من 300

ضرب جيني لهذا الإنزيم، ويكون 100 مليون شخص على الأقل مصابين بعوز هذا الإنزيم بسب هذه الضروب. والاضطراب الناجم عن عوز نازعة هيدروجين الجلوكوز –6– فسفات هو فقر الدم الانحلالي. ويمكن أن يؤدي تناول الفول (الفول الأخضر *Vicia faba*) من قبل المصابين بعوز نشاط هذا الإنزيم إلى هجمة من فقر الدم الانحلالي (بسبب احتواء الفول على مؤكسدات قوية على الأرجح). كما أن هناك عدداً من العوامل التي تحرض الهجمة لأنها تؤدي عند تناولها إلى تولِّيد H_2O_2 أو $O_2^{\bullet}$، ومن هذه العوامل بعض الأدوية (مثل مضاد الملاريا «البريماكين Primaquine» [وتدعى الحالة التي تنجم عن تناول البريماكين فقر الدم الانحلالي الحساس للبريماكين] والسلفوناميدات) والمواد الكيميائية مثل النفتالينات.

ونتخلص عادة من H_2O_2 بواسطة الكاتالاز وبيروكسيداز الجلوتاثيون (الجدول 60-4 التفاعلان 4 و 6) ويؤدي الأخير إلى زيادة إنتاج GSSG. ويتولد GSH من GSSG بفعل إنزيم مختزلة الجلوتاثيون التي تعتمد على توفر NADPH (التفاعل 10). ولا تستطيع الكريات الحمراء في المصابين بعوز نشاط نازعة هيدروجين الجلوكوز –6– فسفات توليد ما يكفي من NADPH لتجديد GSH من GSSG والذي يخل بدوره بقدرتها على تفكيك H_2O_2 وجذور الأكسجين الأخرى. ويمكن أن تؤدي هذه المركبات إلى أكسدة زمر SH الموجودة في مواقع حساسة في البروتينات، وربما إلى الأكسدة الفائقة للشحميات في أغشية الكريات الحمراء مما يؤدي إلى انحلال الكرية الحمراء وتصبح بعض زمر SH مؤكسَدة ويترسب البروتين داخل الكرية الحمراء، مشكلاً أجسام هاينز (Heinz Bodies) التي تتلون بالأرجواني عند استخدام بنفسجية الكريزيل. ويشير وجود أجسام هاينز على أن الكريات الحمراء معرضة إلى كرب تأكسدي.

ويلخص (الشكل 60-2) التسلسل المحتمل للأحداث في فقر الدم الانحلالي الناجم عن عوز نازعة هيدروجين الجلوكوز – 6– فسفات.



الشكل 2-60 : خلاصة الأحداث المحتملة المفضية لفقر الدم الانحلالي بسبب عوز نشاط نازعة هيدروجين الجلوكوز – 6 – فسفات (MIM 305900) (G6PD)

لا يستطيع الميتهيموجلوبين نقل الأكسجين:

يكون الحديد الفروزي (الحديدوز: Ferrous) في الهيموجلوبين عرضة للأكسدة بفوق الأكسيد والعوامل المؤكسدة الأخرى فيتشكل الميتهيموجلوبين الذي لا يستطيع نقل الأكسجين. ويوجد مقدار صغير جدا فقط من الميتهيموجلوبين في الدم السوي

لأن كريات الدم الحمراء تمتلك جملة فعالة (جملة مختزلة الميتهيموجلوبين بالسيتوكروم *b5* المعتمدة على NADH) لاختزال Fe^{3+} إلى حالة Fe^{2+} وتتكون هذه الجملة من NADH (يتولد من تحلل السكر) وبروتين فلاقي يدعى مختزلة السيتوكروم *b5* (يدعى أيضا مختزلة الميتهيموجلوبين) والسيتوكروم b5. ويختزل Fe^{3+} في الميتهيموجلوبين إلى حالة Fe^{2+} بفعل السيتوكروم *b5* المختَزَل:

$$Hb\text{-}Fe^{3+} + Cyt\ b_{5\ red} \longrightarrow Hb\text{-}Fe^{2+} + Cyt\ b_{5\ ox}$$

ثم يعاد توليد السيتوكروم b5 المختزل بفعل مختزلة السيتوكروم *b5* :

$$Cyt\ _{b5\ ox} + NADH \longrightarrow Cyt\ b_{5\ red} + NAD$$

يمكن لوجود الميتهيموجلوبين في الدم أن يكون وراثياً أو مكتسباً:

يمكن تصنيف وجود الميتهيموجلوبين في الدم إلى شكل وراثي أو شكل مكتسب ناجم عن تناول بعض الأدوية والمواد الكيميائية؛ وكلاهما ليس شائعاً، لكن على الأطباء أن يكونوا مدركين لهما. وينجم الشكل الوراثي عادة عن نقص نشاط مختزلة الميتهيموجلوبين، وينتقل هذا الشكل بطريقة صبغية جسدية متنحية. كما تشكل بعض أنماط الهيموجلوبين الشاذة (الهيموجلوبين M) أسباباً نادرة لوجود الميتهيموجلوبين في الدم أيضاً. وفي حالة الهيموجلوبين M تغير الطفرة ثمالة الحمض الأميني التي يرتبط بها الهيم بحيث تتغير ألفته للأكسجين وتزداد إمكانية أكسدته. ويمكن أن يؤدي تناول بعض الأدوية (مثل السلفوناميدات) أو المواد الكيميائية (مثل الأنيلين) إلى الحالة المكتسبة من وجود الميتهيموجلوبين في الدم. ويكون الزراق (Cyanosis) (تلون الجلد والأغشية المخاطية بالأزرق بسبب زيادة كميات الهيموجلوبين غير المؤكسج في الدم الشرياني، أو بسبب زيادة كمية الميتهيموجلوبين في هذه الحالة) هو العلامة التي يأتي بها المريض عادة في كلا النمطين، وتتضح عندما يكون أكثر من 10٪ من الهيموجلوبين بشكل «ميت» Met ويتم أو يتأكد التشخيص بتحليل الدم بالتنظير التألقي، والذي يظهر طيف

الامتصاص الوصفي للميتهيموجلوبين ولا يمكن إعادة أكسجة عينة من الدم محتوية على الميتهيموجلوبين بشكل كامل بإدخال الأكسجين عبرها في حين يمكن أن يحصل ذلك في الدم السوي غير المؤكسج. كما يمكن استخدام الرحلان الكهربائي لإثبات وجود الهيموجلوبين الشاذ. ويستخدم تناول زرقة الميثيلين أو حمض الأسكوربيك (من العوامل المُختَزِلة) لمعالجة الحالات الخفيفة من وجود الميتهيموجلوبين في الدم والناجمة عن عوز إنزيمي. أما الحالات الشديدة الحادة منه (بسبب تناول مواد كيميائية) فتجب معالجتها بحقن زرقة الميثيلين وريدياً.

إن ما نعرفه عن غشاء الكرية الحمراء البشرية أكثر مما هو معروف عن الغشاء السطحي لأية خلية بشرية أخرى:

لقد استخدمت ضروب مختلفة من الأساليب الكيميائية الحيوية لدراسة غشاء الكرية الحمراء (الفصل 43). ومن بينها تحليل البروتينات الغشائية بطريقة SDS-PAGE واستعمال إنزيمات نوعية (إنزيمات البروتياز والجليكوزيداز وغيرها) لتعيين موضع البروتينات السكرية في الغشاء واستخدام طرق مختلفة لدراسة كل من التركيب الشحمي وتوضع الشحميات كل على حد. كما استخدمت على نطاق واسع الطرق المورفولوجية (مثل المجهر الإلكتروني والمجهر الإلكتروني مع المقاطع المجمدة Freeze-fracture) وطرق أخرى (مثل استخدام الأضداد لمكونات نوعية). وعندما تحل الكريات الحمر في ظروف معينة، تلتحم أغشيتها ثانية في اتجاهها الأصلي لتشكيل أشكال شبحية (Ghosts) (أشكل شبحية يمينية). وبتغيير الشروط، يمكن استخدام الأشكال الشبحية أيضاً لتلتحم بحيث يصبح الوجه الهيولي معرضاً للخارج (الأشكال الشبحية الداخلية). وقد كان كلا نمطي الأشكال الشبحية مفيدا في تحليل توضع البروتينات والشحميات النوعية في الغشاء. وقد توفرت في السنوات الأخيرة أشكال الدنا المتمم (cDNAs) لكثير من بروتينات هذا الغشاء مما سمح باستنتاج متواليات أحماضها الأمينية وحقولها. وبذلك أصبح ما هو معروف عن غشاء الكرية الحمراء أكثر مما هو معروف عن أي غشاء آخر في الخلايا البشرية (الجدول 60-5).

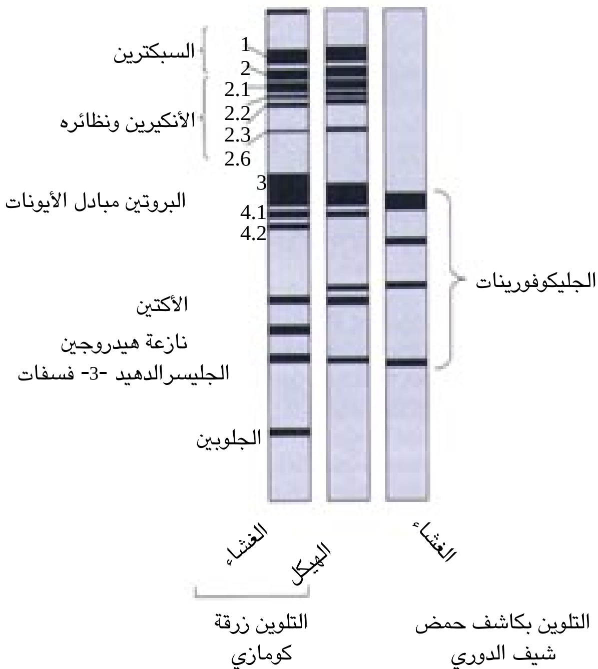
* يكون الغشاء مضاعفاً ومكوناً من الشحوم (نحو 50٪) والبروتينات (50٪).
* صفوف الشحميات الرئيسية هي الشحميات الفسفورية والكوليسترول، أما الشحميات الفسفورية الرئيسية فهي فسفاتيديل الكولين (PC) وفسفاتيديل الإيثانولامين (PE) وفسفاتيديل السيرين (PS) مع السفنجوميلين (Sph).
* تسود الشحميات الفسفورية المحتوية على الكولين (PC و Sph) في الوريقة الخارجية والشحميات الفسفورية المحتوية على الأمين (PE و PS) في الوريقة الداخلية.
* تشكل الشحميات السفنجولية السكرية (GSLs) (GSLsالمتعادلة والجانجليوزيدات والأنواع المعقدة بما في ذلك مواد زمر الدم ABO) نحو 5-10٪ من الشحم الإجمالي.
* يظهر التحليل بطريقة SDS-PAGE أن الغشاء يحتوي على نحو 10 بروتينات رئيسية وأكثر من 100 نوع ثانوي .
* لقد درست البروتينات الرئيسية (التي تضم السبكترين والأنكيرين وبروتين تبادل الأنيونات والأكتين والشريط 1 ، 4) بشكل موسع وأمكن التأكد من الخصائص الأساسية لتوضعها (مثل الاندماجية أو المحيطية) وبنيتها ووظيفتها.
* الكثير من هذه البروتينات هي بروتينات سكرية (مثل الجليكوفورينات (Glycophorins)) تتوضع على السطح الخارجي للغشاء وتحتوي على سلاسل من قلائل السكريد المرتبطة بالأوكسجين أو النتروجين أو كليهما.

الجدول 60-5 : ملخص للمعلومات الكيميائية الحيوية عن غشاء الكرية الحمراء البشرية.

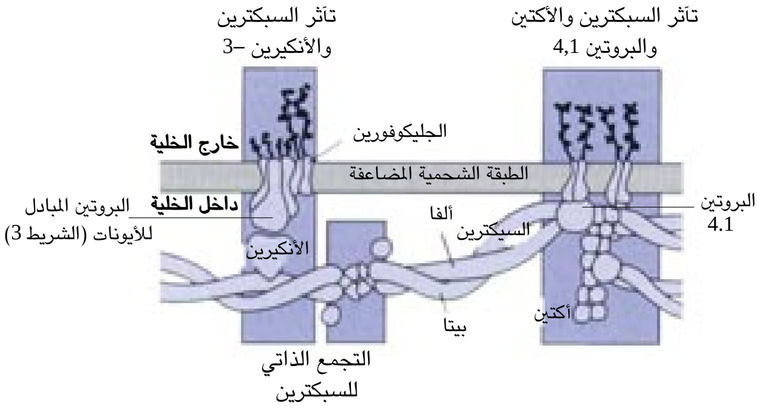
يظهر التحليل بطريقة SDS-PAGE بروتينات غشاء الكرية الحمراء:

عندما تم تحليل أغشية الكريات الحمراء بطريقة SDS-PAGE وجد أن هناك نحو 10 بروتينات رئيسية (الشكل 60-3)، وتبين باستعمال كاشف حمض شيف الدوري PAS (الفصل 56) أن عدداً منها هي من البروتينات السكرية. وقد استخدمت هجرتهاعلى SDS-PAGE لتسميتها حيث أشير إلى أبطئها هجرة (ومن ثم أكبرها كتلة جزيئية) باسم الشريط 1 أو السبكترين (Spectrin). وقد عزلت كافة

البروتينات الرئيسية وحددت وتعرفنا إلى حد ما على وظائفها (الجدول 60-6). كما أثبت الكثير من متواليات أحماضها الأمينية. وعرف أي منها بروتينات غشائية اندماجية أو محيطية، وأي منها يتوضع على السطح الخارجي أو الداخلي، وأي منها يعبر الغشاء (الشكل 60-4). ويمكن كشف الكثير من المكونات البسيطة لغشاء الكرية الحمراء أيضاً باستعمال طرق التلوين الحساسة أو الرحلان الكهربائي ثنائي البعد على الهلام. ومن هذه البروتينات ناقل الجلوكوز الموصوف آنفاً.



الشكل 60-3 : مخطط ترسيمي للبروتينات الرئيسية في غشاء الكرية الحمراء البشرية. وقد عزلت وفصلت بطريقة SDS-PAGE وتظهر الأشرطة المكتشفة بالتلوين بزرقة كوماسي (Coomassie) في القناتين اليسراويتين وأما البروتينات السكرية المكتشفة بالتلوين بكاشف حمض شيف الدوري (PAS) فتظهر في القناة اليمنى.



الشكل 60-4 : مخطط ترسيمي للتآثر فيما بين بروتينات الهيكل الخلوي وبينها وبين بروتينات اندماجية معينة في غشاء الكرية الحمراء.

البروتينات الاندماجية الرئيسية في غشاء الكرية الحمراء هي الجليكوفورينات والبروتين المبادل للأنيونات:

البروتين المبادل للأنيونات (الشريط 3) هو بروتين سكري عابر للغشاء تتوضع نهايته المطرافية الكربوكسيلية على السطح الخارجي للغشاء ونهايته المطرافية الأمينية على السطح الهيولي. وهو مثال عن بروتين الغشاء متعدد العبور (Multipass) حيث يمتد عبر الطبقة المضاعفة 10 مرات على الأقل. وقد يوجد بشكل مثنوية في الغشاء حيث يشكل نفقاً يسمح بتبادل الكلوريد مع البيكربونات. ويدخل ثاني أكسيد الكربون المتشكل في الأنسجة إلى الكرية الحمراء بشكل بيكربونات يجري تبادلها مع الكلوريد في الرئتين حيث يزفر ثاني أكسيد الكربون. وتربط النهاية المطرافية الأمينية عدة بروتينات بما في ذلك الهيموجلوبين والبروتينين 4.1 و

4.2 والأنكيرين وعدد من إنزيمات تحلل السكر. وقد أضيف الشريط 3 المنقى إلى الحويصلات الشحمية في المختبر وتبين أنه ينجز وظائفه الناقلة في هذه الجملة المخلقة.

الجليكوفورينات A و B و C هي أيضاً بروتينات سكرية عابرة للغشاء لكن من النمط أحادي العبور (تعبر الغشاء مرة واحدة فقط). ويتألف الجليكوفورين الرئيسي (A) من 131 حمضاً أمينياً ويضاف إليه الكثير من السكريات (نحو 60٪ من كتلته). وتتبارز نهايته المطرافية الأمينية التي تحتوي على 16 سلسلة قليلة السكريد (15 منها هي جليكانات –O) خارج سطح الكرية الحمراء. ويتوضع نحو 90٪ من حمض السياليك الخاص بغشاء الكرية الحمراء في هذا البروتين، وبنية شدفته العابرة للغشاء (23 حمض أميني) هي الحلزون ألفا. وتمتد نهايته المطرافية الكربوكسيلية إلى العصارة الخلوية وترتبط بالبروتين 4.1 الذي يرتبط بدوره مع السبكترين. وتعدد أشكال هذا البروتين هو أساس نظام الزمرة الدموية MN (انظر لاحقاً). ويحتوي الجليكوفورين A على مواضع ارتباط لڤيروس النزلة الوافدة والمتصورة المنجلية (أحد أسباب الملاريا). ومن اللافت للنظر أن وظيفة الكريات الحمراء في الأشخاص الذين يفتقرون للجليكوفورين A لا تتأثر.

يساعد السبكترين والأنكيرين والبروتينات الغشائية المحيطية الأخرى على تحديد شكل الكرية الحمراء ومرونتها:

يجب أن تكون الكرية الحمراء قادرة على الانضغاط لعبور بعض النقاط الضيقة في دوران الأوعية الدقيقة خلال مرورها المتعدد حول الجسم، وتعد أشباه الجيوب الطحالية ذات أهمية خاصة في هذا السياق. وحتى تغير الكريات الحمراء شكلها بسهولة وبشكل عكوس يجب أن يكون غشاؤها سائلاً (Fluid) مرنا بما يكفي لأن تحافظ على شكلها المقعر الوجهين لأنه يسهل التبادل الغازي. وتساعد الشحميات الغشائية على تحديد سائلية (ميوعة) الغشاء. ويرتبط بالوجه الداخلي لغشاء الكرية الحمراء عدد من بروتينات الهيكل الخلوي المحيطية (الجدول 60-6) التي تساهم في المحافظة على شكله ومرونته، وفيما يلي بعض من وصفها.

الكتلة الجزيئية لتقريبية	**اندماجي أم محيطي**	**البروتين**	**رقم الشريط[1]**
240	محيطي	السبكترين (ألفا)	1
220	محيطي	السبكترين (بيتا)	2
210	محيطي	الأنكيرين	2.1
195	محيطي	الأنكيرين	2.2
175	محيطي	الأنكيرين	2.3
145	محيطي	الأنكيرين	2.6
100	اندماجي	البروتين المبادل للأنيونات	3
80	محيطي	غير مسمى	4.1
43	محيطي	الأكتين	5
35	محيطي	نازعة هيدروجين الجليسرالدهيد – **3** – فسفات	6
29	محيطي	التروبومَيوزين	7
23	محيطي	غير مسمى	8
31 و 23 و 28	اندماجي	الجليكوفورينات A وB وC	

الجدول 60-6 : البروتينات الرئيسية في غشاء الكرية الحمراء.

1 – يشير رقم الشريط إلى موضع الهجرة على SDS-PAGE (انظر الشكل 60-3). كشفت الجليكوفورينات بالتلوين بكاشف حمض شيف الدوري. ولم يدرج عدد من المكونات الأخرى (مثل 4.2 و 4.9) ويكون السبكترين الموجود هو ألفا2 بيتا2.

السبكترين (Spectrin) هو البروتين الرئيسي في الهيكل الخلوي، ويتكون من عديدي ببتيد هما السبكترين 1 (السلسلة ألفا) والسبكترين 2 (السلسلة بيتا) طول كل منهما نحو 100 نم. تتراصف هذه السلاسل بطريقة عكسية التوازي وتلتف إحداهما على الأخرى بشكل ضعيف لتشكل المثنوي. وتتكون كلا السلسلتين من شدف من 106 أحماض أمينية يظهر أنها تتطوى بشكل وشائع حلزونية ثلاثية الطاق ـ ألفا مرتبطة بشدف غير حلزونية. ويتآثر المثنوي مع زميله ليشكلا مربوعاً.

ويمنح هذا الشكل الإجمالي المرونة للبروتين ولغشاء الكرية الحمراء بالتالي. ويحتوي السبكترين على أربعة موضع ارتباط على الأقل: (1) مواضع الارتباط الذاتي؛ (2) موضع ارتباط الأنكيرين؛ (3) موضع ارتباط الأكتين (الشريط 5)؛ (4) مواضع ارتباط البروتين 4.1.

الأنكيرين (Ankyrin) هو بروتين له شكل الهرم يربط السبكترين. وله كذلك ارتباط متين بالشريط 3 مثبتا ارتكاز السبكترين إلى الغشاء. والأنكيرين حساس للحل البروتيني مما يسمح بظهور الأشرطة 2.2 و 2.3 و 2.6 وكلها مشتقة من الشريط 2.1.

يوجد الأكتين (الشريط 5) في الكريات الحمراء كخيوط قصيرة حلزونية مضاعفة من الأكتين F. وترتبط النهاية الذيلية لمثنويات السبكترين بالأكتين الذي يرتبط أيضاً بالبروتين 4.1.

يرتبط البروتين الكروي 4.1 ارتباطاً متينا مع النهاية الذيلية للسبكترين قرب موضع ارتباط الأكتين في الأخير، وبذلك فهو جزء من المعقد الثلاثي المكون منه ومن السبكترين والأكتين. كما يرتبط البروتين 4.1 بالبروتينين الاندماجيين الجليكوفورين A والجليكوفورين B مما يسمح بارتكاز المعقد الثلاثي على الغشاء. بالإضافة لذلك، يمكن أن يتآثر البروتين 4.1 أيضا مع بعض الشحميات الفسفورية الغشائية فيربط الطبقة الشحمية المضاعفة مع الهيكل الخلوي.

تساهم بعض البروتينات الأخرى (4.9 والأدوسين والتروبوميوزين) أيضاً في الهيكل الخلوي للكريات الحمراء.

تتسبب الشذوذات في كمية السبكترين أو بنيته بحدوث داء كَثرة الكريات الحمراء الكروية الوراثية وداء كثرة الكريات الإهليلْجية:

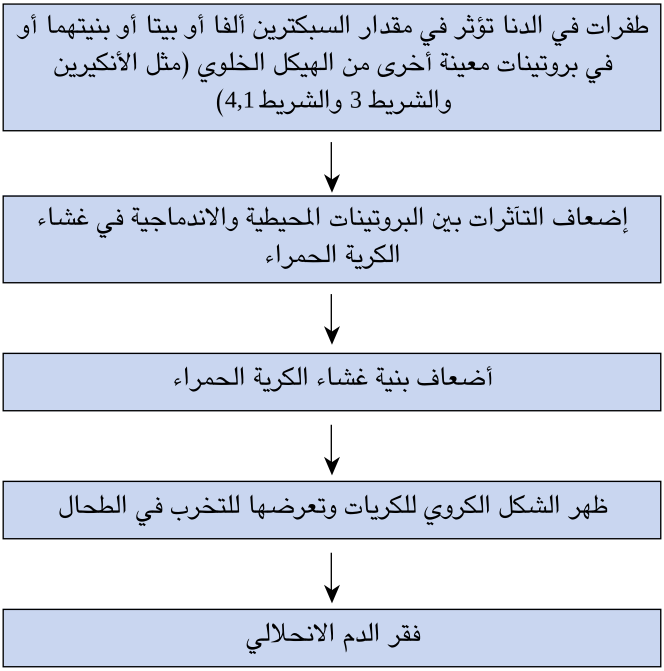
تعد كثرة الكريات الحمراء الكروية الوراثية (Hereditary spherocytosis) مرضاً وراثياً ينتقل جسدياً سائداً يصيب نحو 5000/1 من الأمريكيين الشماليين؛ ويتصف بوجود كريات حمراء كروية (Spherocytes) (نسبة السطح إلى الحجم منخفضة)

في الدم المحيطي مع فقر الدم الانحلالي وضخامة الطحال. ولا تكون الكريات الحمراء الكروية قابلة لتغيير شكلها كالسوية فتتعرض للتخريب في الطحال مما يُنْقص من عمرها في الدوران كثيرا. ويمكن شفاء هذا الداء باستئصال الطحال لأن الكريات الكروية عندئذ يمكن أن تستمر في الدوران دون تخريبها من قبله.

ويزداد استعداد الكريات الكروية للانحلال التناضحي أكثر بكثير من السوية، ويمكن تقدير ذلك باختبار الهشاشة التناضحية (Osmotic fragility) بحيث تعرض الكريات الحمراء في المختبر لتراكيز متدرجة بالانخفاض من كلورد الصوديوم (التركيز الفيزيولوجي لكلوريد الصوديوم هو 0.85 جرام /100مل). وعندما يتعرض الدم إلى تركيز 0.50 جرام/100 مل من كلوريد الصوديوم ينحل عدد قليل جداً من الكريات الحمراء السوية في حين ينحل نحو 50٪ من الكريات الحمراء الكروية. ويفسر ذلك بأن الأخيرة (التي يكون معظمها دائريا) تحوي القليل من الحجم الإضافي للتكيف مع دخول المزيد من الماء وبذلك تنحل بسهولة عندما تتعرض لضغط تناضحي أقل بقليل من السوي.

أحد أسباب كثرة الكريات الحمراء الوراثية (الشكل 60-5) هو نقص مقدار السبكترين أو شذوذات بنيته بحيث تنقص قوة ارتباطه مع البروتينات الأخرى التي يتآثر معها عادة، مما يضعف الغشاء ويؤدي إلى الشكل الكروي للكريات. وقد تتضمن المسببات الأخرى شذوذات الأنكيرين والشريطين 3 و 4.1.

أما داء كثرة الكريات الإهليْلَيجية الوراثية (Hereditary elliptocytosis) فهو اضطراب وراثي يماثل الداء السابق إلا في الشكل الإهليلجي الشبيه بالقرص الذي تأخذه الكريات الحمراء المصابة ويميز بالمجهر. وينجم أيضا عن شذوذات في السبكترين، وكذلك تنجم بعض الحالات عن شذوذات في الشريط 4.1 أو الجليكوفورين C.



الشكل 5-60 : ملخص لأسباب كثرة الكريات الحمر الكروية الوراثية (MIM 182870 و MIM 182900)

هناك العديد من أنظمة الزمر (الفصائل) الدموية بما فيها أنظمة ABO و Rh و MN:

عرف على الأقل 21 نظاماً للزمر الدموية في الإنسان أكثرها اشتهارا ABO و Rh (العامل Rh ”Rhesus“) و MN. ويطلق تعبير «الزمرة» أو «الفصيلة» الدموية (Blood group) على نظام معين من مستضدات الكريات الحمراء (مواد الزمر الدموية) التي يتحكم بها موضع جيني يمتلك عدداً متفاوتاً من الألائل (مثل O، B، A في نظام (ABO). أما المصطلح «نمط الدم» (Blood type) فيشير إلى النمط الظاهري المستضدي الذي يجري التعرف عليه عادة باستعمال الأضداد المناسبة.

وللحصول على تطبيق مناسب ودون أخطاء لعمليات نقل الدم لا بد من فهم أسس نظامي ABO و Rh. هذا فضلاً عن أن لهذه الأسس تطبيقات هامة في المجالات الكيميائية الحيوية والوراثية والمناعية والأنثروبولوجية والباثولوجية والطب الشرعي والتوليد. وسنتحدث هنا باختصار عن بعض الخصائص الأساسية للنظام ABO ونذكر الطبيعة الكيميائية لأنظمة كل من Rh و MN. ومن وجهة النظر الكيميائية الحيوية، تركزت الاهتمامات الرئيسية بمواد ABO على عزلها وتعيين بناها واستيضاح سبل تخليقها الحيوي وتحديد طبيعة نواتج الجينات A و B و O.

للنظام ABO أهمية حاسمة في نقل الدم:

كان العالم كارل لاندشتاينر (Landsteiner) أول من اكتشف هذا النظام في العام 1900 عند بحثه عن أسس التوافق وعدمه في نقل الدم بين البشر. وتحتوي أغشية الكريات الحمراء لمعظم الأفراد على مادة واحدة للزمر الدموية تكون من النمط A أو B أو AB أو O. ويتصف الأفراد من النمط A بوجود أضداد B في البلازما، ولذلك فإن دمهم سيتراص مع الدم من النمط B أو النمط AB. وأما الأفراد من النمط B فلديهم أضداد للنمط A وبذلك فدمهم سيتراص مع الدم من النمط A أو النمط AB. ولا يحوي الدم من النمط AB أضداداً تجاه A أو B ولذلك فهو يدعى باسم المتلقي العام (Universal recipient). كما لا يحوي الدم ذو النمط O المادة A ولا المادة B، ويدعى المُعطي العام (Universal donor).

ويعود تفسير هذه الظواهر إلى حقيقة أن الجسم لا ينتج عادة أضداداً تجاه مقوماته الذاتية، فلا ينتج الأفراد من النمط A مثلاً أضداداً تجاه مادة الزمرة الدموية الخاصة بهم (أي A) لكنهم يظهرون أضداداً تجاه مادة الزمرة الدموية الغريبة B ربما بسبب وجود بنى مماثلة في الكائنات الحية المجهرية التي يتعرض لها الجسم باكراً. وبما أن الأفراد من النمط O لا يحملون مواد من النمط A أو B لذلك يظهرون أضداداً تجاه هذه المواد الغريبة. وقد تم تبسيط الشرح السابق إلى حد كبير (هناك ـ على سبيل المثال ـ زمرتان فرعيتان للنمط A: A_2 ، A_1).

توجد الجينات المسؤولة عن إنتاج المواد ABO على الذراع الطويل للكروموسوم 9. وهناك ثلاثة ألائل، اثنان منها بسيادة مشتركة (B و A) والثالث متنح (O) وتحدد هذه الألائل في نهاية الأمر نواتج النمط الظاهري الأربعة: المواد A و B و AB و O.

المواد ABO هي شحميات سفنجولية سكرية وبروتينات سكرية تشترك في سلاسل قلائل السكريد:

تعد المواد ABO قلائل سكريد معقدة توجد في معظم خلايا الجسم وفي بعض المفرزات. ويبدو أن قلائل السكريد التي تحدد الطبيعة النوعية للمواد ABO على سطح أغشية الكريات الحمراء توجد في الشحميات السفنجولية السكرية بشكل رئيسي في حين توجد قلائل السكريد نفسها في البروتينات السكرية في المفرزات. ويتحدد وجودها في المفرزات بجين يرمز له بالرمز Se (من Secretor أي مفرز) ويرمز ناقلة الفوكوزيل (Fuc) النوعية للأعضاء المفرزة كالغدد خارجية الإفراز لكنه ليس ناشطاً في الكريات الحمراء. ويفرز الأشخاص ذوو الأنماط الكروموسومية SeSe أو Sese المستضدات A أو B (أو كليهما)، في حين لا يفرز الأشخاص من النمط الجيني sese أياً من المادتين A أو B ويمكن لكرياتهم الحمراء أن تعبر عن المستضدات A و B.

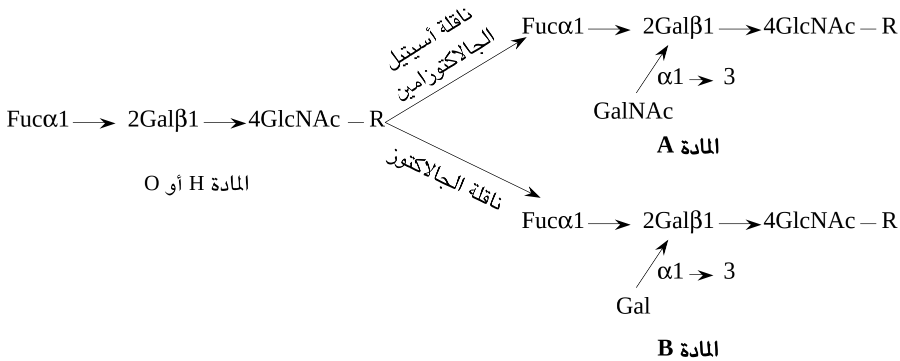
تشكل المادة H طليعة لكل من المادتين A و B:

عزلت المواد ABO وتم تحديد بناها، ويعرض (الشكل 60-6) نماذج مبسطة لا تظهر إلا نهايتها غير المختزلة. ومن المهم التعرف أولاً على بنية المادة H لأنها طليعة كلتا المادتين A و B وهي أيضاً مادة الزمرة الدموية الموجودة في الأشخاص من النمط O. وتتشكل المادة H بواسطة فعل ناقلة الفوكوزيل (Fucosyl transferase) التي تحفز إضافة الفوكوز المطرافي في α1 إلى ثمالة الجالاكتوز (Gal) المطرافية لسلفها بتشكيل الرابطة ألفا$_1$ ⟵الرابطة 2 على ثمالة Gal.

$$\text{GDP-Fuc} + \text{Gal-}\beta\text{-R} \longrightarrow \text{Fuc-}\alpha 1,2\text{-Gal-}\beta\text{-R} + \text{GDP}$$

الطليعة المادة H

يرمـز الموضـع H ناقلة الفـوكـوزيل التي تكون عـاطلة عندمـا يرمـزها الأليل h للموضـع H ؛ ولذلك لا يستـطيع الأشـخـاص من النمط الجيني hh توليد المادة H التي هي طليعة المستـضـدين A و B. وهكذا، سيكون لدى الأشـخـاص من النمط الصبغي hh كريـات حمـراء من النمط O رغم أنهم قـد يمتلكون الإنزيمـات الضـرورية لتـخليق المادة A أو B (انظر لاحقا).



الشكل 60-6 : مخطط ترسيمي لمواد فصائل (زمر) الدم A و B و H. يمثل الحرف R سلسلة قليل سكريد معقدة طويلة ترتبط بالسيراميد (عندما تكون المادة من الشحميات السفنجولية السكرية) أو بهيكل عديد الببتيد للبروتين بواسطة ثمالة سيرين أو ثريونين (عندما تكون المادة من البروتينات السكرية). لاحظ أن مواد زمر الدم ثنائية الفروع (Biantennary)، أي أن لها ذراعين يتشكلان عند نقطة فرعية (غير مشار إليها) بين GlcNAc و R، ولا يظهر في الشكل إلا ذراع واحد للفرع. وهكذا تحتوي كل من المواد A و B و H على سلسلتين قصيرتين موافقتين من قلائل السكريد المبينة آنفاً. وتحتوي المادة ABعلى سلسلة من النمط A وأخرى من النمط B .

يرمـز الجين A ناقلة أسـيتـيل الجالاكتـوز أمـين (GalNAc) والجين B ناقلة الجالاكتو (Gal)، أما الجين O فيرمـز ناتجاً عاطلاً:

بالمقـارنة مع المادة H، تحتـوي المادة A على ثمـالة GalNAc إضـافـية والمادة B على ثمالة Gal إضـافية يرتبط كل منهما كما هو موضـح في (الشكل 60-6). وتكون

أضداد A موجهة إلى ثمالة GalNAc الإضافية الموجودة في المادة A وأضداد B موجهة إلى ثمالة Gal الإضافية في المادة B. وبذلك، يكون GalNAc السكر السائد مناعيا (أي السكر الذي يحدد نوعية الضد المتشكل) في مادة الزمر الدموية A، في حين يكون الجالاكتوز السكر السائد مناعيا للمادة B. وفي ضوء هذه الخصائص البنيوية، لن يكون مدهشاً أن نستطيع تخليق المادة A في المختبرات من المادة O بتفاعل تحفزه ناقلة GalNAc مستخدمين UDP-GalNAc كمانح للسكر. وبالمثل يمكن تخليق الزمر الدموية B من المادة O بفعل ناقلة Gal التى تستخدم UDP-Gal. ومن المهم أن ندرك أن ناتج الجين A هو ناقلة GalNAc التي تضيف ثمالة GalNAc المطرافية إلى المادة O وأن ناتج الجين B هو ناقلة Gal التي تضيف الثمالة Gal إلى المادة O. ويبدي الأشخاص من النمط AB كلا الإنزيمين ومن ثم فهم يمتلكون سلسلتين من قلائل السكريد (الشكل 6-60) تنتهي الأولى بالثمالة GalNAc والثانية بالثمالة Gal ويخلق الأشخاص من النمط O بروتيناً عاطلاً يمكن كشفه بالوسائل المناعية، وبذلك تكون المادة H هي مادة زمرة الدم ABO لديهم.

في العام 1990، وصفت دراسة استخدمت تكنولوجيا التنسيل والسلسلة طبيعة الفروق بين نواتج الجينات Aو B و O (نواقل الجليكوزيل)، ووجد أن اختلافاً في نوكليوتيدات أربعة فقط هو المسؤول عن النوعيات المتميزة لناقلتي الجليكوزيل A و B. ومن جهة أخرى، يتصف الأليل O بطفرة مفردة تؤدي إلى إزاحة الإطار وينجم عنها بروتين يفتقر إلى نشاط الناقلة.

العامل Rh (المستضد D) هو بروتين اندماجي في غشاء الكرية الحمراء قد يتسبب بمشاكل خطيرة خلال عمليات نقل الدم:

إن نظام Rh معقد جداً لم تتضح طبيعته الوراثية ولا الطبيعة الكيميائية الحيوية لنواتجه الجنينة بعد بشكل واضح. ويبدو أنه يوجد على الكروموسوم الأول ثلاثة جينات ذات ارتباط وثيق تساهم في هذا النظام. وفي إحدى طرائق التسمية، يشار إلى نواتج هذه الألائل بالرموز C أو c و E أو e و D أو d، ولم نتمكن من تعيين الناتج الموافق للعنصر d. ويعد المستضد $D(Rh_o)$ المستضد الرئيسي المهم، ويدعى

أيضاً العامل Rh الذي يبدو أنه بروتين غشائي اندماجي في الكرية الحمراء وكتلته الجزيئية 30 ك. دالتون تقريباً، ويمكن أن يكون التآثر مع الشحميات الفسفورية الغشائية هاماً في استضداده. ويفتقر نحو 15٪ من القوقازيين إلى هذا المستضد ويقالُ عنهم سلبيو العامل Rh. وعندما ينقل إلى هؤلاء دم إيجابي العامل Rh، ولو لمرة واحدة، فسوف يشكلون أضداداً للمستضد $D(Rh_0)$. وهكذا، فمن المهم لهؤلاء الأشخاص أن يتلقوا دماً سلبي العامل Rh، وخاصة الإناث قبل الإياس، لأنها قد تصبح حاملا. وإذا نقل دم إيجابي العامل Rh لمثل هذه المرأة من دون انتباه، سيصبح دمها حاوياً على أضداد D فإذا كان طفلها إيجابي العامل Rh يمكن أن تؤدي هذه الأضداد إلى حل كرياته الحمر في حالة تدعى داء الانحلال الدموي لدى الوليد. وينبغي بعد الولادة أو الإجهاض إعطاء الجلوبولين المناعي $Rh_0(D)$ بشكل روتيني للنساء سلبيات العامل Rh، وهو فعال في الوقاية من التشكل النشط عند الأم للأضداد تجاه أية مستضدات $Rh_0(D)$ تعرضت لها.

يشمل نظام الزمر الدموية MNSs أشكالاً متعددة للجليكوفوريناتA و B:

يجري التعرف على الزمر الدموية MN بأمصال مضادة تفرق بين الأشكال المتعددة للجليكوفورين A. وعلى المستوى الجيني هناك أليلان بسيادة مشتركة (M و N) وثلاثة أنماط جينية محتملة (M/M و M/N و N/N). وهناك بالمقابل ثلاثة أنماط ظاهرية (M وN و MN). ومع أن الجليكوفورين A مشبع بالجليكوزيل، إلا أن تعدد الأشكال لا يشمل قلائل السكريد، إنما يشمل فوارق في تسلسل الأحماض الأمينية عند النهاية المطرافية الأمينية للبروتين كما يلي:

	الثمالة 1	الثمالة 2
M	السيرين	الجليسين
N	اللوسين	الجلوتامات

يعد النظام Ss رتبة من الزمرة NN وهو يشمل أشكالا متعددة للجليكوفورين B. ويختلف الشكلان S و s بحمض أميني واحد.

لا يساهم النظام MNSs عادة في تفاعلات نقل الدم، لكن عناصره مفيدة كواصمات وراثية، وتتوضع جيناته ذات الارتباط الوثيق على الكروموسوم 4.

تنجم أشكال فقر الدم الانحلالي عن شذوذات خارج غشاء الكرية الحمراء أو ضمنه أو داخل غشاء الكريات الحمراء:

تشتمل الأسباب خارج الغشاء على فرط الطحالية (Hypersplenism) وهي حالة يتضخم فيها الطحال لأسباب مختلفة ويحتجز الكريات الحمراء بداخله. كما ينضم إلى هذه المجموعة كل من الشذوذات المناعية (مثل تفاعلات نقل الدم ووجود أضداد دفئية وبردية في البلازما تحل الكريات الحمراء والحساسية غير المألوفة للمتممة أيضا) والسموم المتحررة من مختلف العوامل الإعدائية كبعض الجراثيم (المطثية). وتطلق بعض الأفاعي سمها الذي يعمل على حل غشاء الكرية الحمراء (بواسطة عمل إنزيمات الفسفوليباز أو البروتيناز مثلاً).

أما الأسباب ضمن الغشاء فتضم شذوذات البروتينات. ومن أهم الحالات كثرة الكريات الحمراء الكروية الوراثية وكثرة الكريات الإهليليجية الوراثي اللذان ينجمان بشكل رئيسي عن شذوذات في كمية السبكترين أو بنيته (انظر آنفا).

تشمل الأسباب داخل الكرية الحمراء كلاً من اعتلالات الهيموجلوبين والاعتلالات الإنزيمية. ويعد فقر الدم المنجلي أهم اعتلالات الهيموجلوبين. كما أن شذوذات الإنزيمات في سبيل فسفات البنتوز وفي سبيل تحلل السكر هي أكثر الاعتلالات الإنزيمية شيوعاً، لا سيما الأول. ويشيع عوز نازعة هيدروجين الجلوكوز –6 – فسفات في بعض أجزاء العالم (سبب شائع لفقر الدم الانحلالي). ورغم عدم تواتره كثيراً، فإن عوز كيناز البيروفات هو العوز الإنزيمي الثاني الأكثر شيوعاً في إحداث فقر الدم الانحلالي، ويبدو أن الآلية تنجم عن اضطراب تحلل السكر مما يؤدي إلى نقص تشكل الأتب (ATP) والتأثير في الأوجه المختلفة لسلامة الغشاء.

يدرج (الجدول 60-7) التحريات المختبرية التي تساعد على تشخيص فقر الدم الانحلالي.

تتصف العدلات بأيض نشيط وتحتوي على عدة إنزيمات وبروتينات فريدة:

يلخص (الجدول 60-8) الملامح الكيميائية الحيوية الرئيسية للعدلات. و تتجلى الملامح البارزة في النشاط الواضح لتحلل السكر الهوائي وسبيل فسفات البنتوز والنشاط المعتدل للفسفتة الأكسدية (لأن المتقدرات متناثرة نسبيا) والمحتوى الكبير من الإنزيمات اليحلولية. والكثير من الإنزيمات المدرجة في (الجدول 60-4) هامة أيضا في الأيض الأكسدي للعدلات (انظر لاحقاً). ويلخص (الجدول 60-9) وظائف بعض البروتينات التي تعد مميزة نسبيا للعدلات.

الاختبارات والمجودات العامة:
زيادة البيليروبين غير المقترن (غير المباشر)
قصر زمن بقيا الكريات الحمراء المقاس بزرق كريات حمر ذاتية موسومة بالكروم (^{51}Cr)
كثرة الشبكيات
اعتلال الهيموجلوبين
نقص مستوى الهابتوجلوبين البلازمي
الاختبارات والموجودات النوعية:
الرحلان الكهربي للهيموجلوبين (مثل الهيموجلوبين المنجلي)
إنزيمات الكريات الحمراء (مثل عوز G6PD أو PK)
الهشاشة التناضحية (كثرة الكريات الحمراء الكروية الوراثية)
اختبار كومبس[1] (Coombs)
الراصات الباردة

الجدول 60-7 : التحريات المختبرية التي تساعد على تشخيص فقر الدم الانحلالي.

1– يكشف اختبار كومبس المباشر وجود الأضداد على الكريات الحمر، في حين يكشف اختبار كومبس غير المباشر وجود أضداد في الدوران موجهة ضد المستضدات الموجودة على الكريات الحمراء.

* تحلل السكر النشيط
* سبيل فسفات البنتوز النشيط
* الفسفتة الأكسدية المعتدلة
* غنية باليحلولات وإنزيماتها التدركية
* تحوي بروتينات وإنزيمات فريدة (كالبيروكسيداز النقوية وأكسيداز NADPH)
* تحتوي على الإنتجرينات CD18\CD11 في الغشاء البلازمي

الجدول 60-8 : ملخص للملامح الكيميائية الحيوية الرئيسية للعدلات.

تعد العدلات مفاتيح دفاع الجسم الرئيسية ضد العداوى الجرثومية:

العدلات هي خلايا بلعمية متحركة تلعب دوراً رئيسياً في الالتهاب الحاد. وعندما تدخل الجراثيم إلى الأنسجة، تحدث عدة ظواهر تدعى مجتمعة باسم «الاستجابة الالتهابية الحادة» وتشمل (1) زيادة النفوذية الوعائية (2) ودخول العدلات المنشطة إلى الأنسجة (3) وتنشيط الصفيحات (4) والخمود التلقائي (خمود الالتهاب) عند التعامل مع المكروبات بشكل ناجح.

تطلق الخلايا مجموعة من العوامل المختلفة والبروتينات البلازمية خلال الالتهاب الحاد، والمحصلة الإجمالية هي زيادة النفوذية الوعائية مما يؤدي إلى الوذمة النسيجية (الجدول 60-10).

في الالتهاب الحاد، تستنفر العدلات من مجرى الدم إلى الأنسجة للمساعدة على التخلص من العناصر الغازية الغريبة. وتجتذب العدلات إلى الأنسجة بواسطة عوامل الجذب الكيميائي (Chemotactic factors) التي تتضمن شدفة المتممة C5a وببتيدات صغيرة مشتقة من الجرثومة (مثل N– فورميل ـ ميثيونيل ـ لوسيل ـ فينيل الألانين) وعدد من اللوكوترينات. ولكي تصل إلى الأنسجة، على العدلات الجوالة أن تعبر الشعيرات؛ ولتحقيق ذلك، تهاجر على طول الجدر الوعائية ثم تلتصق بالخلايا البطانية للشعيرات.

الجدول 9-60 : ملخص للملامح الكيميائية الحيوية الرئيسية للعدلات. بعض الإنزيمات والبروتينات الهامة في العدلات [1].

الإنزيم أو البروتين	التفاعل المحفز أو الوظيفة	ملاحظات
البيروكسيداز النقوية (MPO)	$H_2O_2 + X^- (Halide) + H^+ \rightarrow HOX + H_2O$ (حيث X^- = أيون الكلور، HOX= حمض الهيبوكلور)	مسؤول عن اللون الأخضر للقيح. يمكن أن يؤدي العوز الوراثي إلى عداوى ناكسة.
أكسيداز NADPH	$2O_2 + NADPH \rightarrow 2O_2^{-\bullet} + NADP + H^+$	مكون رئيسي في الهبة التنفسية. تكون ناقصة في الداء الحبيبومي المزمن.
الليزوزيم	يحلمه الارتباط بين حمض *N*– أسيتيل موراميك و*N* – أسيتيل الجلوكوزامين اليميني الموجود في بعض جدر الخلايا الجرثومية	غزير في البلاعم
الدِّفنسينات (defensins)	صادات ببتيدية أساسية مؤلفة من 20-33 حمضاً أمينياً	يبدو أنها تقتل الجراثيم عبر إحداث أذية غشائية
اللاكتوفيرين	بروتين رابط للحديد	يمكن أن يثبط نمو بعض الجراثيم بربط الحديد، وأن يساهم في تنظيم تكاثر الخلايا النقوية
CD11a/CD18، CD11b/CD18، CD11c/CD18[2]	جزيئات التصاق (عناصر في فصيلة الإنتجرينات)	تكون ناقصة في عوز التصاق الكريات البيض من النمط الأول (MIM 116920).

[تابع] الجدول 60-9 : ملخص للملامح الكيميائية الحيوية الرئيسية للعدلات. بعض الإنزيمات والبروتينات الهامة في العدلات [1].

الإنزيم أو البروتين	التفاعل المحفز أو الوظيفة	ملاحظات
مستقبلات للشدف Fc من الجلوبولينات المناعية IgG	تربط الشدف Fc لجزيئات IgG	توجه المعقدات الضدية المستضدية إلى الخلايا النقوية واللمفاوية، فتتيح البلعمة والاستجابات الأخرى.

1– لقد درس التعبير عن العديد من هذه الجزيئات خلال مختلف أطوار تمايز العدلات السوية، وكذلك الخلايا الابيضاضية الموافقة، باستخدام طرائق البيولوجيا الجزيئية (كقياسات رناها mRNA المرسال النوعي). وقد عزلت جزيئات الدنا المتمم (cDNA)لمعظمها وحدد تسلسلها، واستنتجت منها متواليات الأحماض الأمينية. كما تم تحديد توضع الجينات على الكروموسومات وتسلسل الإكسونات والإنترونات. ويدرج (الجدول 12-60) بعض إنزيمات البروتيناز الهامة في العدلات (Cluster of differentiation = CD-2) عنقود التمايز أو مجموعة التمايز. ويشير إلى نظام موحد اتفق عليه لتسمية الواصمات السطحية للكريات البيضاء. ويقال عن البروتين السطحي النوعي (الواصمة) الذي يميز سلالة معينة من الكريات البيضاء أو مرحلة معينة من مراحل تمايزها، والذي يجري التعرف عليه بالأضداد أحادية النسيلة، بأنه عضو في أحد عناقيد التمايز. ويساعد هذا النظام في تصنيف الرتب الفرعية للمفاويات على وجه الخصوص. والكثير من مستضدات CD تساهم في التآثرات الخلوية ـ الخلوية والالتصاق والإشعار عبر الغشاء.

تتوسط الإنتجرينات التصاق العدلات بالخلايا البطانية:

يساهم في التصاق العدلات بالخلايا البطانية بروتينات التصاق نوعية (الإنتجرينات) تتوضع على سطحها ومستقبلات نوعية في الخلايا البطانية (انظر أيضاً دراسة السلكتينات (Selectins) (في الفصل 56).

الإنتجرينات هي طائفة من البروتينات السطحية تنتشر بشكل واسع في الخلايا وتساهم في التصاق بعضها ببعض أو التصاقها مع مكونات نوعية للمطرس خارج الخلوي. أما من الناحية البنيوية فهي مثنويات غير متجانسة تحتوي على وحيدة ألفا ووحيدة بيتا ترتبطان ارتباطاً غير تساهمي. وتحتوي الوحيدات على شدف خارج خلوية وأخرى عابرة للغشاء وثالثة داخل خلوية. وترتبط الشدف خارج الخلايا بضروب مختلفة من اللجائن كبعض بروتينات المطرس خارج الخلايا وسطوح الخلايا الأخرى. وغالبا ما تحتوي هذه الربائط على التسلسل أرجينين (R) ـ جليسين (G) أسبارتات (D) (R-G-D). كما ترتبط الحقول داخل الخلايا بمختلف بروتينات الهيكل الخلوي كالأكتين والڤينكولين (Vinculin). وبهذه الطريقة، يمكن اعتبار الإنتجرينات كبروتينات تربط خارج الخلايا بداخلها فتساعد في الاستجابة المناسبة للخلايا (كالحركة والبلعمة) للتغيرات في الوسط المحيط.

الخلايا البدينة والأسسات	الصفيحات	العدلات	البروتينات البلازمية
الهيستامين	السيروتونين	العامل المنشط للصفيحات (PAF) الإيكوسانويدات (بروستاجلنديناتولوكوترينات مختلفة)	C3aو C4a و C5a من جملة المتممة البراديكينين ونواتج تشطر الفبرين من جملة التخثر

الجدول 10-60 : مصادر الجزيئات الحيوية التي تملك تأثيرات وعائية وتساهم في الالتهاب الحاد.

لقد تم التعرف في البداية على ثلاثة فصائل من الإنتجرينات تحتوي عناصر كل منها على الوحيدة بيتا نفسها، لكن الوُحيدة ألفا تختلف من عنصر إلى آخر. بعد ذلك تم التعرف على أكثر من ثلاث وحيدات بيتا، وأصبح تصنيف الإنتجرينات أكثر تعقيدا. ويدرج (الجدول 60-11) بعض الإنتجرينات ذات العلاقة النوعية بالعدلات.

الجدول 60-11 : أمثلة عن الإنتجرينات الهامة لوظيفة العدلات وغيرها من الكريات البيض والصفيحات [1].

الانتجرين	الخلية	الوحيدة	اللجين	الوظيفة
VLA-1 (CD49a)	الكريات البيضاء وخلايا أخرى	α1β1	الكولاجين، اللامينين	التصاق الخلايا بـ ECM
VLA-5 (CD49e)	الكريات البيضاء وخلايا أخرى	α5β1	الفيبرونكتين	التصاق الخلايا بـ ECM
VLA-6 (CD49f)	الكريات البيضاء وخلايا أخرى	α6β1	اللامينين	التصاق الخلايا بـ ECM
LFA-1 (CD11a)	الكريات البيض	αLβ2	ICAM-1	التصق الكريات البيض
البروتين السكري IIb/IIIa	الصفيحات	αllbβ3	ICAM-2	التصاق الصفيحات وتكدسها
			الفيبرونكتين، مولد الفيبرين، عامل فون ڤيليبراند	

1 – LFA: المستضد 1 المرتبط بوظيفة اللمفاويات ؛ VLA: مستضد متأخر جدا؛ CD: عنقود التمايز؛ ICAM: جزيء الالتصاق بين الخلايا ؛ ECM: المطرس خارج الخلايا. ويوجد عوز LFA-1 والإنتجرينات الأخرى ذات الصلة في النمط الأول من عوز التصاق الكريات البيضاء (MIM 116290). أما عوز المعقد البروتيني السكري الصفيحي IIb/IIIa فيسبب داء وهن الصفيحات من نمط جلانزمان (MIM 273800)، وهي حالة تتصف بقصة نزوف مع تعداد صفيحات سوي وانكماش شاذ للجلطة. وتوضح هذه الموجودات كيف أن المعرفة الأساسية ببروتينات التصاق السطوح الخلوية تلقي الضوء على أسباب بعض الأمراض.

يتصف النمط الأول من عوز التصاق الكريات البيضاء بحدوث عداوى جرثومية وفطرية ناكسة وينجم عن عوز الوحيدة بيتا-2 (تدعى أيضاً CD18) للإنتجرين LFA-1. واثنين آخرين في العدلات والبلاعم هما Mac-1 (CD11b/CD18) و p150,95 (CD11c/CD18). عوز التصاق الكريات البيضاء من النمط الأول وهو مرض يتميز بحدوث عداوى جرثومية وفطرية ناكسة ومن بين النتائج المختلفة لهذا العوز نجد نقص التصاق الكريات البيض المصابة بالخلايا البطانية مما يؤدي إلى أن أعداداً قليلة فقط من العدلات تدخل إلى الأنسجة لمكافحة العدوى.

وبمجرد اجتيازها جدر الشعريات الدموية، تهاجر العدلات نحو التراكيز المرتفعة لعوامل الجذب الكيميائي فتصادف الجراثيم الغازية وتحاول مهاجمتها وتخريبها. وينبغي تنشيط العدلات للقيام بعدد من العمليات الأيضية المساهمة في البلعمة وقتل الجراثيم.

يشابه تنشيط العدلات تنشيط الصفيحات ويتضمن حلمهة فسفاتيديل الإينوزيتول ثنائي الفسفات:

تحدثنا عن الآليات المساهمة في تنشيط الصفيحات في (الفصل 59) (الشكل 59-17). وتشمل العملية تآثر المنبه (مثل الثرومبين) مع المستقبل وتنشيط البروتينات G وتنبيه الفسفوليباز C وإطلاق ثلاثي فسفات الإينوزيتول وثنائيات أسيل الجليسيرول من مركبات فسفاتيديل الإينوزيتول ثنائي الفسفات. ويؤدي هذان المرسالان الثانويان إلى زيادة أيونات الكالسيوم داخل الخلية وتنشيط الكيناز البروتينية C. كما يقود تنشيط الفسفوليباز A2 إلى إنتاج حمض الأراكيدونيك الذي يمكن أن يتحول إلى ضروب مختلفة من الإيكوسانويدات (Eicosanoids) ذات الفعاليات البيولوجية المتنوعة.

وبصورة مماثلة تقريباً يتم تنشيط العدلات الذي يبدأ بتآثر مستقبلات نوعية على سطحها مع الجراثيم أو عوامل الجذب الكيميائي أو مع معقدات ضدية ـ مستضدية. وتؤثر الزيادة الحاصلة في أيونات الكالسيوم داخل الخلية في الكثير

من العمليات ضمن العدلات، كتجميع النبيبات وتجميع جملة الأكتين ـ ميوزين اللتين تساهمان ـ على الترتيب ـ في إفراز محتويات الحبيبات وفي الحركية. ومن خلال هذا الإفراز وتلك الحركية تتمكن العدلات من السعي نحو الغازيات. وتصبح العدلات المنشطة عندئذ جاهزة لتخريب الغازيات بآليات تشمل إنتاج مشتقات الأكسجين الفعالة.

تشمل الهبة التنفسية لخلايا البلعمة أكسيداز التميم NADPH وتساعد على قتل الجراثيم:

عندما تبتلع العدلات وخلايا البلعمة الأخرى الجراثيم تحدث زيادة سريعة في استهلاك الأكسجين تعرف باسم الهبة التنفسية (Respiratory burst) وتعكس هذه الظاهرة استهلاكاً سريعاً للأكسجين (بعد زمن قدره 15-60 ثانية) وإنتاج كميات كبيرة من مشتقاته شديدة التفاعلية مثل $O_2^{\bar{\bullet}}$ و H_2O_2 و $OH^{\bullet}$ و OCl^- (أيون الهيبوكلوريت). وبعض هذه النواتج مبيدة للمكروبات.

تتكون جملة سلسلة نقل الإلكترون المسؤولة عن الهبة التنفسية (تدعى أكسيداز التميم (NADPH) من عدة مكونات. وأحد هذه المكونات هو السيتوكروم b_{558} المتوضعة في الغشاء البلازمي، وهو مثنوي غير متجانس يحتوي على عديدي ببتيد بوزن 91 و 22 ك. دالتون. وعندما تتفعل الجملة (انظر أدناه)، يجند عديدا ببتيد (47 و 67 ك. دالتون) من العصارة الخلوية ويلحقان بالغشاء البلازمي ويشكلان مع السيتوكروم b_{558} إنزيم أكسيداز التميم NADPH المسؤول عن الهبة التنفسية. ويتحفز التفاعل بأكسيداز التميم NADPH ويتضمن تشكيل أنيون فوق الأكسيد (التفاعل 2 في الجدول 60-4). وتحفز هذه الجملة اختزال الأكسجين (بإلكترون واحد) إلى أنيون فوق الأكسيد. ويتولد NADPH بواسطة دورة فسفات البنتوز التي يزداد نشاطها بشكل ملحوظ خلال البلعمة.

يتلو التفاعل السابق إنتاج تلقائي (تطافر عفوي) لبيروكسيد الهيدروجين من جزيئين من فوق الأكسيد:

$$O_2^{\bar{\bullet}} + O_2^{\bar{\bullet}} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

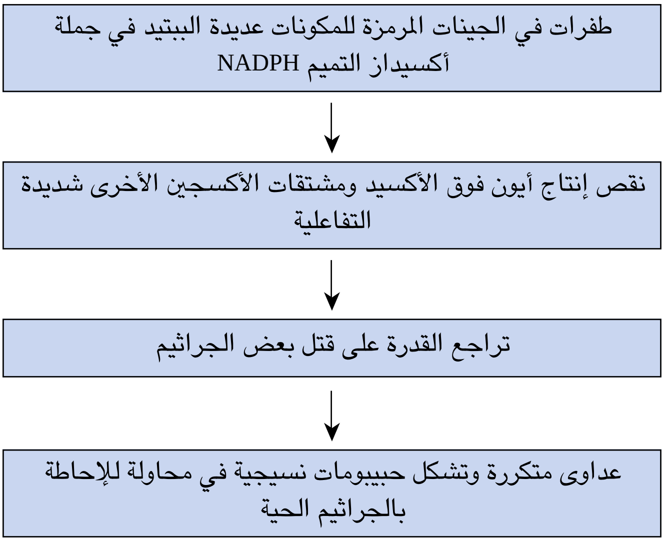
يطلق أيون فوق الأكسيد خارج الخلية أو داخل الجسيمات البلعمية اليحلولية حيث يصادف الجرثومة المبتلعة. ويبدو أن قتل الجراثيم ضمن الجسيمات البلعمية اليحلولية يعتمد على اشتراك فعل الباهاء pH المرتفعة أو أيون فوق الأكسيد أو مشتقات الأكسجين الأخرى (H_2O_2 و OH^+ و HOCl [حمض الهيبوكلوروس] «انظر لاحقا») مع فعل بعض الببتيدات المبيدة للجراثيم (الدفنسينات Defensins) والبروتينات الأخرى (مثل الكاتبسين [Cathepsin] والبروتينات G وبروتينات كاتيونية معينة) موجودة في خلايا البلعمة. ويتحول فوق الأكسيد الذي يدخل إلى العصارة الخلوية للخلية البلعمية إلى H_2O_2 بفعل ديسموتاز فوق الأكسيد التي تحفز تفاعل التطافر العفوي المبين آنفا نفسه. ويستخدم H_2O_2 بدوره من قبل البيروكسيداز النقوية (انظر أدناه) أو يفكك بفعل بيروكسيداز الجلوتاثَيون أو الكاتالاز.

عندما تكون الخلايا البلعمية بلا عمل، تكون أكسيداز التميم NADPH عاطلة. وتتنشط عند تماس لجائن مختلفة (شدفة المتممة C5a أو ببتيدات الجذب الكيميائي.. إلخ) مع مستقبلات في الغشاء البلازمي. وقد درست الأحداث المؤدية إلى تنشيط جملة الأكسيداز بشكل واسع وهي مماثلة لتلك الموصوفة آنفاً في تنشيط العدلات. وتشمل هذه الأحداث البروتينات G وتنشيط الفسفوليباز C وتوليد 1،4،5 – ثلاثي فسفات الإينوزيتول (IP3). ويتواسط هذا الأخير زيادة مؤقتة في مستوى أيونات الكالسيوم في العصارة الخلوية تعتبر ضرورية لتحريض الهبة التنفسية. كما تتولد أيضاً ثنائيات أسيل الجليسيرول وتحرض إزفاء الكيناز البروتينية C من العصارة الخلوية إلى الغشاء البلازمي حيث تحفز فسفتة بروتينات مختلفة من بينها مكونات لجملة الأكسيداز. كما يبدو أن هناك سبيلاً آخر للتنشيط لا يشمل أيونات الكالسيوم.

تؤدي طفرات جينات مكونات جملة أكسيداز التميم NADPH إلى الداء الحبيبومي المزمن:

اتضحت أهمية جملة أكسيداز NADPH عندما لوحظ أن الهبة التنفسية تكون

معيبة في الداء الحبيبومي المزمن، وهو اضطراب غير شائع نسبيا يتصف بعداو متكررة وتشكل حبيبومات واسعة (آفات التهابية مزمنة) في الجلد والرئتين والعقد اللمفية. وتتشكل الحبيبومات في محاولة للإحاطة بالجراثيم التي لم تقتل بسبب أعواز وراثية في جملة أكسيداز التميم NADPH. وينجم الاضطراب عن طفرات في الجينات المرمزة لأربعة عديدات ببتيد تؤلف هذه الجملة. وقد استجاب بعض المرضى للمعالجة بالإنترفيرون ـ جاما الذي قد يزيد انتساخ المكون ذي الكتلة الجزيئية 91 ك. دالتون إذا كان مصابا. ويظهر في (الشكل 60-7) التسلسل المحتمل للأحداث المؤدية إلى الداء الحبيبومي المزمن.



الشكل 60-7 : مخطط مبسط لتتابع الأحداث المساهمة في الداء الحبيبومي المزمن (MIM 306400). يمكن أن تؤدي الطفرات في أي من الجينات المرمزة لعديدات الببتيد الأربعة المساهمة (اثنان منها يدخلان كمكونات في السيتوكروم b_{558} واثنان مشتقان من الهيولى) في المرض. ويرمز لعديد الببتيد 91 ك. دالتون جين على الكروموسوم X؛ ونحو 60 ٪ من حالات الداء الحبيبومي المزمن يكون مرتبطاً بالكروموسوم X، أما الحالات المتبقية فهي وراثية جسدية متنحية.

تحتوي العدلات على البيروكسيداز النقوية التي تحفز إنتاج مؤكسدات مكلورة:

يوجد إنزيم البيروكسيداز النقوية بكميات كبيرة في حبيبات العدلات (وهو المسؤول عن اللون الأخضر للقيح)، ويمكن أن يعمل على H_2O_2 لإنتاج أحماض تحت هاليدية (Hypohalous):

$$H_2O_2 + X^{-} + H^{+} \xrightarrow{\text{البيروكسيداز النقوية}} HOX + H_2O$$

(حيث $X^- = Cl^-$ أو Br^- أو I^- أو SCN^- ؛ $HOCl$ = حمض الهيبوكلوروس)

يتولد H_2O_2 المستخدم كركيزة بواسطة جملة أكسيداز التميم NADPH. والكلور Cl^- هو الهاليد المستخدم عادة لأنه يوجد بتركيز مرتفع نسبيا في البلازما وسوائل الجسم. ويعد HOCl (المكون الفعال في المنظفات المنزلية السائلة) مؤكسدا قويا ومبيدا للجراثيم والمكروبات بشدة. وعندما يطبق على الأنسجة السوية ينقص احتمال إحداثه للأذية لأنه يتفاعل مع الأمينات الأولية والثانوية الموجودة في العدلات أو الأنسجة لتنتج مشتقات نتروجينية ـ كلورية مختلفة. ولهذه الأمينات الكلورية تأثيرات مؤكسدة أيضاً وتعمل ـ رغم أنها أضعف من HOCl– كعوامل مبيدة للجراثيم (كما في تعقيم الجروح) من دون إحداث أذية نسيجية.

يمكن أن تتسبب إنزيمات البروتيناز الموجودة في العدلات بأذية نسيجية خطيرة إذا لم يتم التحكم بأفعالها:

تحتوي العدلات على عدد من إنزيمات البروتيناز (الجدول 60-12) التي تستطيع حلمهة الإيلاستين ومختلف أنماط الكولاجين والبروتينات الأخرى الموجودة في المطرس خارج الخلايا. ويمكن لهذا الفعل الإنزيمي ـ إذا سمح له بالتقدم دون معارضة ـ أن يتسبب في أذية خطيرة للأنسجة.

إنزيمات البروتيناز	مضادات إنزيمات البروتيناز
الإيلاستاز	مضاد البروتيناز – ألفا $_1$ (مضاد التربسين – ألفا $_1$)
الكولاجيناز	الجلوبولين الكبروي ألفا $_2$
الجيلاتيناز	مثبط البروتيناز الإفرازي في الكريات البيض
الكاتبسين G	مضاد الكيموتربسين ألفا $_1$
منشط البلازمينوجين	مثبط منشط البلازمينوجين – 1 المثبط النسيجي للبروتيناز المعدنية

الجدول 60-12 : إنزيمات البروتيناز في العدلات ومضاداتها البلازمية والنسيجية [1].

(1) يدرج هذا الجدول قائمة ببعض إنزيمات البروتيناز الهامة في العدلات وبعض البروتينات التي يمكن أن تثبط أفعالها . وتوجد معظم إنزيمات البروتيناز المذكورة بشكل طلائع في العدلات. ومنشط البلازمينوجين ليس بروتينازاً ولكنه أدرج هنا لأنه يؤثر في نشاط أحد البروتينازات هو البلازمين. وتستطيع إنزيمات البروتيناز المذكورة هنا هضم عدد من بروتينات المطرس خارج الخلايا محدثة أذية نسيجية. ويمكن أن يتغير التوازن الإجمالي بين فعل البروتيناز ومضاداتها بتنشيط طلائع البروتينازات أو بتعطيل مضاداتها . وقد يحدث الأمر الأخير نتيجة التدرك الحال للبروتين أو التحوير الكيميائي مثل تحوير ثمالة الميثيونين (Met-358) في مثبط مضاد البروتيناز ألفا 1 (مضاد التربسين ألفا $_1$) بأكسدته الناجمة عن دخان السجائر.

ومعظم هذه البروتينازات إنزيمات يحلولية توجد كطلائع عاطلة في العدلات السوية. وتطلق إلى الأنسجة السوية مقادير صغيرة من هذه الإنزيمات تزداد بوضوح خلال الالتهاب. ويتم في الحالات السوية التحكم بأنشطة الإيلاستاز والبروتينازات بواسطة عدد من مضادات البروتينازات (مدرجة في الجدول 60-12 أيضاً) الموجودة في البلازما والسائل خارج الخلايا. ويستطيع كل من هذه المضادات الارتباط مع واحد أو أكثر من البروتينازات النوعية لتشكل معقداً غير

تساهمي تتثبط فيه الأخيرة. ولقد تبين لنا في (الفصل 59) أن عوزا وراثياً في مثبط مضاد البروتيناز ألفا$_1$ (مضاد التربسين ألفا$_1$) يسمح بعمل الإيلاستاز من دون معارضة وبهضم النسيج الرئوي، الأمر الذي يتسبب في النفاخ. كما أن الجلوبولين الكبروي ألفا$_2$ هو بروتين بلازمي يلعب دورا هاماً في دفاع الجسم ضد الفعل المفرط للبروتينازات، فهو يتحد مع عدد من البروتيازات الهامة ويعدل أنشطتها (الفصل 59).

وعندما تتشكل مقادير زائدة من المؤكسدات المكلورة خلال الالتهاب، تقوم بتغيير التوازن بين إنزيمات البروتيناز ومضاداتها باتجاه الأول. فعلى سبيل المثال، ينشط HOCl بعض البروتينازات المدرجة في (الجدول 60-12) ويعطل بعض مضادات البروتينازات. بالإضافة إلى ذلك، يستطيع الكاتالاز المنشطة حلمهة المثبط النسيجي للبروتينازات المعدنية ومضاد الكيموتربسين ألفا$_1$، كما يمكن أن يتحلمه مثبط مضاد البروتيناز ألفا$_1$ بواسطة الكولاجيناز والجيلاتيناز المنشط. ويتحقق في معظم الظروف توازن مناسب بين إنزيمات البروتيناز ومضاداتها، ولكن في حالات أخرى ـ كما في الرئة عندما ينقص مثبط مضاد بروتيناز ألفا$_1$ أو عندما تتراكم كميات كبيرة من العدلات في الأنسجة بسبب النزح غير الكافي ـ قد تحدث أذية نسيجية هامة نتيجة الفعل مُطلَق العنان لإنزيمات البروتيناز.

لقد كان لتكنولوجيا الدنا المأشوب تأثير هائل في أمراض الدم:

أثرت تكنولوجيا الدنا المأشوب تأثيراً كبيراً في عدة نواح من علم الدمويات، فقد تم إيضاح أسس أمراض الثلاسيمية (الفصل 42) والكثير من اضطرابات التخثر (الفصل 59) بالتحريات التي استخدم فيها التنسيل والسلسلة. كما أفضت دراسة الجينات الورمية والإزفاء الصبغي إلى فهم ابيضاضات الدم بشكل كبير (الفصل 62). وكما شرحنا آنفاً ساهمت تقنيات التنسيل في توفير مقادير علاجية كافية من الإريثروبويتين وعوامل النمو الأخرى. وقد كان عوز نازعة أمين الأدينوزين ـ التي تؤثر في اللمفاويات بشكل خاص ـ أول مرض عولج بالمعالجة الجينية (انظر الحالة رقم 8 في الفصل 65). وقد أحدثت هذه التكنولوجيا ثورة من التطور في علم أمراض الدم مثله مثل الكثير من حقول البيولوجيا والطب الأخرى.

الخلاصة:

الكرية الحمراء بسيطة في تركيبها ووظيفتها وتتألف بشكل رئيسي من محلول مركز من الهيموجلوبين محاط بغشاء. وينظّمُ الإريثروبويتين إنتاج الكريات الحمراء في حين تنظم عوامل النمو الأخرى (عامل تنبيه مستعمرات المحببات وعامل تنبيه مستعمرات المحببات والبلاعم) إنتاج الكريات البيضاء. وتحتوي الكريات الحمراء على مجموعة من الإنزيمات في عصارتها الخلوية (مثل ديسموتاز فوق الأكسيد والكاتالاز وبيروكسيداز الجلوتاثيون) تقوم بتفكيك المؤكسدات القوية المتولدة خلال الأيض. ويعد العوز الوراثي لنشاط نازعة هيدروجين الجلوكوز – 6 – فوسفات (ينتج NADPH) سبباً هاما لفقر الدم الانحلالي. ولا يستطيع الميتهيموجلوبين نقل الأكسجين، وقد عرف العديد من الأسباب الوراثية والمكتسبة لوجود الميتهيموجلوبين في الدم. كما أصبحنا نعرف معلومات هامة عن بروتينات غشاء الكرية الحمراء وشحمياته. ويتآثر عدد من بروتينات الهيكل الخلوي كالسبكترين والأنكيرين والأكتين مع بروتينات غشائية اندماجية نوعية مما يساعد في تنظيم مظهر الغشاء ومرونته. ويؤدي عوز السبكترين إلى كثرة الكريات الحمر الكروية الوراثية وهو سبب هام آخر لفقر الدم الانحلالي. وتوجد مواد زمر الدم ABO في غشاء الكرية الحمراء، وهي عبارة عن شحميات سكرية سفنجولية معقدة؛ ويكون السكر السائد مناعيا للمادة A هو N– أسيتيل الجالاكتوزامين في حين يكون الجالاكتوز هو السكر السائد في المادة B، ويبدو أن مستضدات Rh هي بروتينات غشائية اندماجية وأن مواد الزمرة MN هي أشكال متعددة للجليكوفورين A. وتلعب العدلات دورا أساسياً في آليات الجسم الدفاعية. وتحدد الإنتجرينات الموجودة على سطوح الأغشية الخلوية التآثرات النوعية بين مختلف المكونات الخلوية والنسيجية. وتنشط الكريات البيضاء عند التعرض للجراثيم أو المنبهات الأخرى، ويلعب أكسيداز التميم NADPH دوراً محورياً في عملية التنشيط (الهُبَّة التنفسية). وتفضي الطفرات في هذا الإنزيم والبروتينات المرافقة إلى الداء الحبيبومي المزمن. وتستطيع إنزيمات البروتيناز الموجودة في العدلات هضم العديد من البروتينات

النسيجية، ويتم التحكم في هذه الإنزيمات في الحالة السوية بمجموعة من مضادات البروتينازات. ولكن، يمكن التغلب على هذه الآلية الدفاعية في بعض الظروف مما يقود إلى أذية نسيجية واسعة. وتتطور دراسة أمراض الدم بتطبيق تكنولوجيا الدنا المأشوب تطوراً هائلاً.

*** References:**

Anderson DC, Kishimoto TK, Smith CW: Leukocyte adhesion deficiency and motility. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 7th ed . Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 1995.

Becker PS, Lux SE: Hereditary spherocytosis and hereditary elliptocytosis. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 7th ed . Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 1995.

Borregaard N, Cowland JB: Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocyte. *Blood* 1997; 89:3503.

Forehand Jr et al: Inherited disorders of phagocyte killing In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 7th ed . Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 1995.

Israels LG. Israels ED: *Mechanisms in Hematology*, 2nd ed. Univ Manitoba Press, 1997. (Includes an excellent interactive CD.)

Jaff ER, Hultquist DE: Cytochrome bs reductase deficiency and enzymopenic hereditary methemoglobinemia. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 7th ed . Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 1995.

Kishimoto T et al: CD antigens 1996, *Blood* 1997;89;3502.

Luzzato L, Mehta A: Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 7th ed . Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 1995.

Rosen GM et al: Free radicals and phagocytic cells, FASEB J 1995;9:20.

Tanaka KR, Paglia DE: Pyruvate kinase and other enzymopathies of the erythrocyte. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 7th ed . Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 1995.

Weathrall DJ et al: The hemoglobinopathies. *In: The Metabolic and*

Molecular Bases of Inherited Disease, 7th ed . Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 1995.

Yamamoto F et al: Molecular genetic basis of the histoblood group ABO system. *Nature*1990;345:229.

الفصل الحادي والستون

أيض الجزيئات الأجنبية بيولوجياً

Metabolism of Xenobiotics

مقدمة:

يتعرض البشر بشكل متزايد لأنواع مختلفة من المواد الكيميائية الأجنبية (الجزيئات الأجنبية بيولوجياً Xenobiotics) كالأدوية والمضافات الغذائية والملوثات... إلخ. وأفضل من لخص هذه الحالة جيداً هي راشيل كارسون (Rachel Carson) حيث قالت: «كما السلاح في يد الغر، تشكل هذه المواد الكيميائية خطراً على الحياة». ويعد التعامل مع فهم كيفية تداول (Handling) الجزيئات الأجنبية بيولوجياً على المستوى الخلوي هاماً في تعلم كيفية التأقلم مع هذا الهجوم الكيميائي الضار.

الأهمية الطبية البيولوجية:

تعد معرفة أيض الجزيئات الأجنبية بيولوجياً أساسية للفهم المنطقي لعلم الأدوية والمعالجة والصيدلة وعلم السموم وأبحاث السرطان وإدمان العقاقير. وتشمل كافة هذه الحقول تطبيق أو إعطاء الجزيئات الأجنبية بيولوجياً أو التعرض لها.

يصادف الإنسان آلاف الجزيئات الأجنبية بيولوجياً التي يجب أن تستقلب قبل أن تفرغ:

الجزيء الأجنبي بيولوجياً (يعني المصطلح الإغريقي *Xenos* غريب) هو المركب

الأجنبي عن الجسم. وتشتمل الأصناف الرئيسية للجزيئات الأجنبية بيولوجياً ذات الصلة بعالم الطب على الأدوية والمسرطنات الكيميائية ومركبات مختلفة وجدت طريقها إلى بيئتنا بطريق أو بآخرمثل ثنائيات الفينيل عديدة الكلور (PCBs) وبعض المبيدات الحشرية. ويوجد أكثر من 200 ألف مادة كيميائية صناعية في البيئة ومعظم هذه المركبات تكون معرضة للأيض (التغير الكيميائي) في جسم الإنسان، ويكون الكبد هو العضو الرئيسي المساهم في هذه العملية، كما يمكن أن يفرغ الجزيء الأجنبي بيولوجياً من دون تغيير. ويحفز 30 إنزيماً مختلفاً على الأقل التفاعلات المساهمة في أيض الجزيئات الأجنبية بيولوجياً ولكن لا يغطي هذا الفصل إلا مجموعة مختارة منها، ومن المتفق عليه دراسة أيض الجزيئات الأجنبية بيولوجياً في طورين:

في الطور الأول تكون إضافة الهيدروكسيل (هدركسلة Hydroxylation) هي التفاعل الرئيسي المساهم ويتحفز ذلك بعدة أصناف من الإنزيمات التي تدعى إنزيمات الأكسجيناز الأحادية (Monooxygenases) أو السيتوكرومات P450s. وقد ينهي هذا التفاعل فعل الدواء لكن ليس في كل الحالات. فضلاً عن إضافة الهيدروكسيل، تحفز هذه الإنزيمات عدداً كبيراً من التفاعلات الأخرى بما في ذلك تلك المساهمة في نزع الأمين ونزع الهالوجين ونزع الكبريت وتشكيل الإيبوكسيد (Epoxidation) والأكسجة الفائقة (Peroxygenation) والاختزال. ومن تفاعلات الطور الأول الأخرى نذكر الحلمهة (كتلك المحفزة بإنزيمات الإستراز) وتفاعلات أخرى غير محفزة بالسيتوكروم P450.

في الطور الثاني، تتحول المركبات المضاف إليها الهيدروكسيل أو تلك الناجمة عن الطور الأول إلى متأيضات قطبية مختلفة بإنزيمات معينة وذلك بالاقتران (Conjugation) مع حمض الجلوكورونيد أو السلفات أو الأسيتات أو الجلوتاثيون أو بعض الأحماض الأمينية أو بالمَثْيَلة.

إن الهدف الإجمالي لطَوْري أيض الجزيء الأجنبي بيولوجياً هو زيادة ذوبانه في الماء (قطبيته) ومن ثم تيسير إفراغه من الجسم. فالجزيئات الأجنبية بيولوجياً الكارهة للماء بشدة قد تبقى في النسيج الدهني إلى ما لا نهاية تقريباً إذا لم تتحول

إلى أشكال أكثر قطبية. وفي بعض الحالات تحول التفاعلات الأيضية في الطور الأول الجزيء الأجنبي بيولوجياً من مركبات عاطلة إلى أخرى فعالة بيولوجياً وفي هذه الحالات تدعى الجزيئات الأجنبية بيولوجياً باسم «طلائع الأدوية» أو «طلائع المسرطنات». وفي حالات أخرى تحول تفاعلات الطور الأول الإضافية (مثل تفاعلات إضافة المزيد من الهيدروكسيل) المركبات الفعالة إلى أشكال عاطلة أو أقل فاعلية قبل الاقتران. كما يمكن لتفاعلات الاقتران نفسها في حالات أخرى أن تحول النواتج الفعالة في تفاعلات الطور الأول إلى أنواع عاطلة أو اقل فاعلية تفرغ لاحقاً في البول أو الصفراء. وهناك حالات قليلة جداً يمكن أن يزيد فيها الاقتران النشاط البيولوجي للجزيئات الأجنبية بيولوجياً.

يستخدم مصطلح إزالة السمية (Detoxification) أحياناً للدلالة على الكثير من التفاعلات المساهمة في أيض الجزيئات الأجنبية بيولوجياً. ولكن هذا ليس مناسباً دائماً لأنه في بعض الحالات ـ كما ذكرنا آنفاً ـ تزيد التفاعلات التي تتعرض لها الجزيئات الأجنبية بيولوجياً نشاطها البيولوجي وسميتها فعلياً.

تقوم نظائر السيتوكروم P450 بإضافة الهيدروكسيل (هدركسلة) الآلاف من الجزيئات الأجنبية بيولوجياً خلال الطور الأول من أيضها:

الهدركسلة هي التفاعل الرئيسي المساهم في الطور الأول. وتدعى الإنزيمات المسؤولة باسم إنزيمات الأكسجيناز الأحادية أو السيتوكروم P540. ويرمز المجين البشري 14 فصيلة على الأقل من هذه الإنزيمات. ويتراوح تقدير عدد إنزيمات السيتوكروم P540 في الأنسجة البشرية من نحو 35 إلى 60 إنزيماً متميزاً. ويمثل التفاعل المحفز بهذه الإنزيمات كما يلي:

$$RH + O_2 + NADPH + H^+ \longrightarrow R-OH + H_2O + NADP$$

يمكن أن تمثل RH ضروباً واسعةً جداً من الجزيئات الأجنبية بيولوجياً بما في ذلك الأدوية والمسرطنات والمبيدات الحشرية ونواتج البترول والملوثات (مثل مزيج PCBs)، كما تكون بعض المركبات داخلية المنشأ كالستيرويدات والإيكوزانويدات

والأحماض الدهنية والريتينويدات ركائز أيضاً. وتكون الركائز بوجه عام أليفة للشحم وتصبح أليفة للماء اكثر بإضافة الهيدروكسيل.

يعد السيتوكروم P450 أكثر حفاز بيولوجي معروف بتنوعه. وآلية التفاعل الحقيقية معقدة وقد وصفت بإيجاز سابقاً (الشكل 8-13). ولقد تبين باستعمال النظير $^{18}O_2$ أن ذرة واحدة من الأوكسجين تدخل في مجموعة الهيدروكسيل المضافة للمركب، وذرة أُخرى تدخل في الماء ويكون هذا المصير الثنائي للأوكسجين مسؤولاً عن تسمية إنزيمات الأكسجيناز الأحادية سابقاً باسم إنزيمات الأكسيداز ذات الوظيفة المختلطة ويمكن تمثيل التفاعل المُحَفَّز بالسيتوكروم P450 كما يلي:

سيتوكروم P-450 مؤكسدة   سيتوكروم P450 مُختَزلة

$$R\text{-}OH + H_2O \longrightarrow RH + O_2$$

إن إنزيمات الأكسجيناز الأحادية الرئيسية في الشبكة الهيولية الباطنية هي السيتوكرومات P540. وقد دعيت باسمها هذا لأن الإنزيم كان قد اكتشف أولاً عندما لوحظ أن محضرات الأجسام الصغروية (Microsomes) التي اختزلت (Reduced) كيميائياً ثم عرضت لأول أكسيد الكربون أظهرت ذروة منفصلة عند الطول الموجي 450 نم. ومن بين أسباب أهمية هذا الإنزيم حقيقة أن نحو 50 ٪ من الأدوية التي يتناولها الإنسان تستقلب بنظائره كما تعمل هذه الإنزيمات على مختلف المسرطنات والملوثات.

تشكل نظائر السيتوكروم P540 فصيلة من الإنزيمات المحتوية على الهيم:

نعرض فيما يلي النقاط الهامة المتعلقة بالسيتوكرومات P540:

1 – بسبب العدد الكبير من النظائر الإنزيمية (نحو 150) المكتشفة أصبح من المهم إيجاد طريقة تسمية منهجية لنظائر P540 وجيناتها. ويتوفر هذا النظام حالياً ويستعمل على نطاق واسع، ويعتمد على التماثل البنيوي. ويدل الجذر المختصر

CYP على السيتوكروم P540. ويتبعه رقم عربي يدل على الفصيلة، وتدخل إنزيمات السيتوكروم P540 في الفصيلة نفسها إذا أظهرت تماثلاً في التسلسل بقدر 40 ٪ أو أكثر. ويتبع ذلك الرقم العربي بحرف كبير يشير إلى الفصيلة الفرعية عند وجود عنصرين أو أكثر، وتكون P540 في الفصيلة الفرعية نفسها إذا أظهرت تماثلاً في التسلسل أكثر من 55 ٪ ثم يشار إلى P540s كل على حدة بأعداد عربية بشكل عشوائي. وهكذا يشير الرمز CYP1A1 إلى السيتوكروم P540 الذي ينتمي إلى الفصيلة 1 وإلى الفصيلة الفرعية A وهو النظير الأول من هذه الفصيلة الفرعية. وأما تسمية الجينات المرمزة للسيتوكروم P540 فهي مماثلة لتلك الموصوفة سابقاً لكن باستخدام الأحرف المائلة وهكذا يكون الجين المرمز للسيتوكروم CYP1A1 هو *CYP1A1*.

2 – هذه الإنزيمات هي بروتينات هيمية مثل الهيموجلوبين.

3 – تتوزع على نطاق واسع بين الأنواع. وتحتوي الجراثيم على السيتوكرومات P540. والسيتوكروم $P540_{Cam}$ (المساهم في أيض الكافور) للزائفة الكريهة *(Pseudomonas putida)* هو النظير الوحيد الذي عرفت بنيته البلورية من بين هذه الإنزيمات.

4 – توجد بأعلى مقادير في الكبد والأمعاء الدقيقة لكنها توجد في كافة الأنسجة غالباً. وفي الكبد ومعظم الأنسجة الأُخرى توجد بشكل رئيسي في أغشية الشبكة الهيولية الباطنة الملساء التي تشكل قسماً من الجزء الصغروي الناجم عن التجزيء تحت الخلوي (الفصل 2). ويمكن أن تشكل السيتوكرومات P540 في الصغريات الكبدية زهاء 20 ٪ من البروتين الإجمالي، وتوجد في معظم الأنسجة ولو بكمية صغيرة بالمقارنة مع الكبد. وفي الكظر توجد ضمن المتقدرات وكذلك في الشبكة الهيولية الباطنة حيث تلعب هناك دوراً هاماً في التخليق الحيوي للكوليسترول والستيرويدات (الفصل 48).

وتختلف جملة السيتوكروم P540 المتقدري عن الجملة الصغروية في أنها تستخدم بروتيناً فلاقياً (Flovoprotein) مرتبطاً بـ NADPH يسمى مختزلة الأدرينودوكسين (Adrenodoxin reductase) وبروتيناً آخر يحتوي على الكبريت

والحديد (لكن ليس هيماً) هو الأدرينودوكسين. كما تساهم نظائر P540 النوعية في التخليق الحيوي للستيرويدات وتكون بوجه عام أكثر تحدداً في نوعيتها تجاه الركيزة.

5 – هناك على الأقل 6 نظائر إنزيمية للسيتوكروم P540 موجودة في الشبكة الهيولية الباطنية في كبد الإنسان، ولكل منها نوعيات واسعة ومتداخلة نوعاً ما تجاه الركيزة وتعمل على كل من الجزيئات الأجنبية بيولوجياً والمركبات داخلية المنشأ. وقد أمكن عزل جينات كثير من نظائر P540 (من كل من الإنسان والحيوان كالجرذان) ودراستها بالتفصيل في السنوات الأخيرة.

6 – يساهم NADPH وليس NADH في آليات تفاعل السيتوكروم P540. ويدعى الإنزيم الذي يستعمل NADPH لتشكيل السيتوكروم P540 المختزل (مبين في الجهة اليمنى من المعادلة السابقة) باسم مختزلة السيتوكروم P540 المعتمدة على NADPH. وتنقل الإلكترونات من NADPH إلى مختزلة السيتوكروم P540 ثم إلى السيتوكروم P540. وهذا ما يقود إلى تنشيط اختزالي للأكسجين الجزيئي، وتقحم ذرة الأكسجين لاحقاً في الركيزة. ويمكن أن يساهم السيتوكروم b_5 (وهو بروتين هيمي آخر موجود في أغشية الشبكة الهيولية الباطنة الملساء (الفصل 13) كمانح للإلكترونات في بعض الحالات.

7 – تعد الشحميات أيضاً من مكونات جملة السيتوكروم P540. والمفضل منها هو فسفاتيديل الكولين، الشحم الرئيسي الموجود في أغشية الشبكة الهيولية الباطنة.

8 – معظم النظائر الإنزيمية للسيتوكروم P450 قابلة للتحريض (Inducible)؛ فعلى سبيل المثال، يؤدي إعطاء أو تناوب الفينوباربيتال أو الكثير من الأدوية الأُخرى إلى ضخامة الشبكة الهيولية الباطنة الملساء، وإلى زيادة في كمية السيتوكروم P450 بمقدار 3-4 أضعاف في غضون 4-5 أيام. ولقد درست آلية التحريض على نطاق واسع، وهي تشمل في معظم الحالات زيادة انتساخ الرنا المرسال الخاص بالسيتوكروم P450. ولكن حالات معينة من التحريض تنجم عن التأثير في ثباتيّة الرنا المرسال أو الإنزيم أو آليات أخرى (مثل التأثير في الترجمة).

يستفاد من تحريض السيتوكروم P450 في تطبيقات سريرية هامة لأنه آلية كيميائية حيوية للتآثر الدوائي الذي يحدث عندما تتغير تأثيرات الدواء بتطبيق دواء آخر قبله أو معه أو بعده. وللإيضاح، سندرس حالة مريض يتناول مضاد التخثر الوارفرين (Warfarin) لمنع تجلط الدم (يتأيض هذا الدواء بواسطة CYP2C9) وأعطي في الوقت نفسه الفينوباربيتال (محرض للسيتوكروم P450 السابق) لمعالجة نمط معين من الصرع من دون تغيير جرعة الوارفرين. وبعد 5 أيام تقريباً، سيرتفع مستوى CYP2C9 في كبد المريض بمقدار 3-4 أضعاف؛ وهذا يعني أن الوارفرين سيتأيض بسرعة أكبر من السابق وستكون جرعاته غير كافية ولذلك يجب زيادة الجرعة حتى يبقى الوارفرين فعالاً علاجياً. وبمتابعة هذا المثال أكثر سنجد أنه ستنشأ مشكلة لاحقاً إذا جرى إيقاف الفينوباربيتال مع المحافظة على زيادة جرعة الوارفرين حيث يتعرض المريض لخطر النزف لأن الجرعة المرتفعة من الوارفرين ستكون أكثر فعالية من السابق لأن مستوى CYP2C9 سينقص عند إيقاف الفينوباربيتال.

هناك مثال آخر عن التحريض الإنزيمي يشمل الإنزيم CYP2E1، الذي يحرض بتناول الإيثانول. ويستحق هذا الأمر الاهتمام، لأن هذا السيتوكروم P450 الأيض مذيبات معينة واسعة الاستخدام ومكونات موجودة في التبغ أيضاً، وقد ثبت أن الكثير منها مسرطن. وهكذا، عندما تزداد فعالية CYP2E1 بفعل التحريض يمكن أن يزيد ذلك خطر ظهور التسرطن نتيجة التعرض لمثل هذه المركبات.

9 – تساهم بعض نظائر السيتوكروم P450 (مثل CYP1A1) بوجه خاص في أيض الهيدروكربونات الأروماتية (العطرية) عديدة الحلقات (PAHs) وبعض المواد الأخرى المتعلقة بها، ولهذا دعيت أولاً باسم إنزيمات هيدروكسيلاز الهيدروكربونات الأروماتية (AHHs). وهذه الإنزيمات هامة في أيض PAHs وفي التسرطن الناجم عن هذه العوامل. فعلى سبيل المثال، يمكن أن يساهم هذا الأمر في الرئة في تحويل PAHs العاطلة (طلائع المسرطنات) المستنشقة بالتدخين إلى مسرطنات فعالة بواسطة تفاعلات الهدركسلة. ويبدي المدخنون مستويات مرتفعة من هذا الإنزيم في بعض الخلايا والأنسجة لديهم أكثر من غير المدخنين. وقد أشارت بعض التقارير إلى أن نشاط هذا الإنزيم قد يزداد (يتحرض) في مشيمة النساء المدخنات، وبذلك

قد يغير مقادير مستقلبات PAHs التي يتعرض لها الجنين والتي قد يكون بعضها مؤذياً.

10 – تتصف بعض السيتوكرومات P450 بتعدد الأشكال (النظائر الوراثية)، ويبدي بعضها نشاطاً تحفيزياً منخفضاً. وقد قادت هذه الملاحظات إلى تفسير هام للفوارق في الاستجابات الدوائية الملاحظة بين الكثير من المرضى. وأحد السيتوكرومات P450 التي تبدي تعدد أشكال هو CYP2D6 الذي يساهم في أيض الديبريسوكين (Debrisoquin) (دواء خافض لضغط الدم، انظر الجدول 61-2) والسبارتين (Sparteine) مضاد للانظمية ومعجل للولادة (Oxytocic). وتؤدي بعض أشكال هذا الإنزيم (CYP2D6) إلى ضعف أيض هذين المركبين وضروب مختلفة من الأدوية الأُخرى مما يؤدي إلى تراكمها في الجسم مؤدية إلى نتائج غير مرغوبة. وهناك متعدد أشكال آخر لافت للنظر هو *CYP2A6* الذي يساهم في أيض النيكوتين إلى كونيتين. وقد أمكن تعيين ثلاثة ألائل للجين CYP2A6: نمط بري شائع وآخران عاطلان أو معدومان. ولقد ذكر أن الأفراد الذين توجد لديهم الألائل المعدومة، ويبدون اضطراباً في أيض النيكوتين، يتمتعون بمقاومة واضحة لتحولهم إلى مدخنين مدمنين (الجدول 61-2). ويدخن هؤلاء الأفراد بدرجة أقل، ربما لأن التراكيز الدموية والدماغية للنيكوتين تبقى مرتفعة لفترة أطول ممن لديهم الأليل من النمط البري (wild). ولذلك افترض أن تثبيط CYP2A6 قد يكون طريقة بديعة للمساعدة على الإقلاع عن التدخين ومعالجته. ويلخص (الجدول 61-1) بعض الملامح الرئيسية للسيتوكرومات P450.

تحضر تفاعلات الاقتران الجزيئات الأجنبية بيولوجياً للإفراغ في الطور الثاني من أيضها:

تحول تفاعلات الطور الأول الجزيئات الأجنبية بيولوجياً إلى مشتقات هيدروكسيلة أكثر قطبية. وأما في تفاعلات الطور الثاني، فتقترن هذه المشتقات مع جزيئات مثل حمض الجلوكورونيك أو السلفات أو الجلوتاثيون. وهذا ما يجعلها أكثر ذوباناً في الماء لتفرغ في نهاية المطاف في البول أو الصفراء.

* تساهم في الطور الأول من أيض الجزيئات الأجنبية بيولوجياً الكثيرة، بما في ذلك 50 ٪ من الأدوية التي يتناولها الإنسان تقريباً.
* تساهم في أيض عدد من المركبات داخلية المنشأ (مثل الستيرويدات).
* جميعها من البروتينات الهيمية.
* غالباً ما تبدي نوعية واسعة للركيزة، وبذلك فهي تؤثر في عدد من المركبات؛ ونتيجة لهذا الأمر يمكن أن تحفز السيتوكرومات P450 المختلفة تشكيل الناتج نفسه.
* تعد محفزات عديدة الجوانب للغاية، ربما تحفز نحو 60 نمطاً من التفاعلات.
* ولكن، تحفز بشكل رئيسي التفاعلات المساهمة في إدخال ذرة واحدة من الأكسجين إلى الركيزة وأخرى إلى الماء.
* تكون نواتجها المضاف إليها الهيدروكسيل أكثر ذوباناً في الماء من ركائزها الأليفة للشحم عموماً مما ييسر الإفراغ.
* يحتوي الكبد على أعلى كميات منها لكنها توجد في معظم الأنسجة إن لم تكن في جميعها، بما في ذلك الأمعاء الدقيقة والدماغ والرئة.
* تتوضع في الشبكة الهيولية الباطنة أو في المتقدرات (الهرمونات المكونة للستيرويدات).
* تكون نواتجها في بعض الحالات مطفرة أو مسرطنة.
* تبلغ الكتلة الجزيئية للكثير منها نحو 55 ك. دالتون.
* الكثير منها قابل للتحريض وهذا أحد أسباب التآثرات الدوائية.
* يثبط الكثير منها بأدوية مختلفة أو بنواتجها الأيضية مما يعطي سبباً آخر للتآثرات الدوائية.
* يبدي بعضها تعدد أشكال وراثية قد تؤدي إلى أيض دوائي غير نموذجي.
* يمكن أن تتغير أنشطتها في الأنسجة المريضة (كما في التشمع) مما يؤثر في الأيض الدوائي.
* قد يسمح تعيين النمط الكروموسومي للشاكلة P450 في المرضى (لكشف تعدد الأشكال مثلاً) باستفراد المعالجة الدوائية في المستقبل.

الجدول 1-61 : بعض خصائص السيتوكرومات P450 في الإنسان.

وصف لخمسة أنماط من تفاعلات الطور الثاني:

1 – **إضافة حمض الجلوكورونيك (Glucuronidation)**:وصفت تفاعلات إضافة الجلوكورونيك إلى البيليروبين في (الفصل 34)؛ وتكون تفاعلات ربط الجزيئات الأجنبية بيولوجياً بحمض الجلوكورونيك مماثلة لها. ويعمل حمض جلوكورونيل ثنائي فسفات اليوريدين كمانح للجلوكورونيل أما المُحَفِّزات فهي ضروب مختلفة من نواقل الجلوكورونزيل، موجودة في كل من الشبكة الهيولية الباطنة والعصارة الخلوية. ومن الأمثلة على الجزيئات التي تفرغ على شكل جلوكورونيدات نذكر كلاً من: 2 ـ أسيتيل أمينوفلورين (مسرطن) والأنيلين وحمض البنزويك والميبروبامات (مهدئ) والفينول وعدد من الستيرويدات. ويمكن أن يرتبط الجلوكورونيد بمجموعات الأكسجين أو النتروجين أو الكبريت في الركائز. وربما تكون إضافة الجلوكورونيد أكثر تفاعلات الاقتران شيوعاً.

2 – إضافة السلفات (Sulfation): ويتم على بعض الكحولات والأريلامينات والفينولات. ويكون مانح السلفات في هذه التفاعلات وفي تفاعلات سلفتة بيولوجية أخرى (مثل سلفتة الستيرويدات والجليكُوز أمينُوجليكانات والشحميات السكرية والبروتينات السكرية) هو ´3 فسفات ـ ´5– فسفوسلفات الأدينوزين (PAPS) (الفصل 26). ويدعى هذا المركب «السلفات الفعالة».

3 – **الاقتران مع الجلوتاثيون**: يعد الجلوتاثَيون (جاما ــ جلوتاميل سيستينيل الجليسين) ببتيداً ثلاثياً مكوناً من حمض الجلوتاميك والسيستين والجليسين (الشكل 5-4). ويشار إلى الجلوتاثيون بشكل شائع بالرمز GSH اختصاراً (بسبب زمرة السلفهيدريل في السيستين، الجزء العامل في هذا المركب). ويقترن عدد من الجزيئات الأجنبية بيولوجياً الأليفة للإلكترونات ذات السمية الكامنة (مثل بعض المسرطنات) مع GSH الأليف للنوى في تفاعلات يمكن تمثيلها كما يلي:

$$R + GSH \longrightarrow R - S - G$$

بحيث أن R هي جزيء أجنبي بيولوجياً أليف للإلكترونات. وتدعى الإنزيمات التي تحفز هذه التفاعلات بنواقل الجلوتاثيون S التي توجد بكميات مرتفعة في

عصارة الخلية الكبدية وبكميات منخفضة في الأنسجة الأخرى. كما توجد ضروب مختلفة من هذه النواقل في النسيج البشري. وتبدي هذه النواقل نوعيات مختلفة للركائز، ويمكن أن تفصل بالرحلان الكهربائي والطرق الأخرى. وإذا لم تكن الجزيئات الأجنبية بيولوجياً ذات السمية المحتملة مقترنة مع GSH فقد تكون حرة في الارتباط تساهمياً مع الدنا (DNA) أو الرنا (RNA) أو البروتين الخلوي بما لذلك من نتائج خطيرة مؤذية للخلية. ولهذا، يعد GSH آلية دفاع هامة ضد بعض المركبات السامة (بعض الأدوية والمسرطنات). وعندما تنقص مستويات GSH في نسيج ما كالكبد (يتحقق ذلك مثلاً بإعطاء الجرذ مركبات معينة تتفاعل مع (GSH) قد يبدو ذلك النسيج أكثر استعداداً للأذية بعوامل كيميائية مختلفة تقترن في الحالة السوية مع GSH. وتخضع المركبات المقترنة بالجلوتاثيون للمزيد من الأيض قبل إفراغها، فينزع جلوتاميل وجليسينيل الجلوتاثيون بواسطة إنزيمات خاصة، وتضاف زمرة أسيتيل (مشتقة من أسيتيل التميم A) إلى المجموعة الأمينية لجزيء السيستينيل المتبقي. ويكون المركب الناتج هو حمض المركابتوريك (Mercapturic) (أحد مقترنات أسيتيل السيستين المياسر) الذي يفرغ بعد ذلك في البول.

يقوم الجلوتاثيون بوظائف أخرى هامة في الخلايا البشرية إضافة لدوره في أيض الجزيئات الأجنبية بيولوجياً:

أ – يساهم في تفكيك بيروكسيد الهيدروجين (Hydrogen peroxide) ذي السمية الكامنة في تفاعل يحفزه إنزيم بيروكسيداز الجلوتاثيون (الفصل 22).

ب – يعد مختزلاً هاماً داخل الخلية فيساعد على الحفاظ على السلفهيدريل الهام للإنزيمات بحالته المختزلة. وقد درسنا هذا الدور في (الفصل 22)، كما شرحنا مساهمته في فقر الدم الانحلالي الناجم عن عوز نازعة هيدروجين الجلوكوز ـ 6 ـ فسفات في (الفصلين 22 و 60).

جـ – تساهم الدورة الأيضية التي تضم الجلوتاثَيون كحامل في نقل بعض الأحماض الأمينية عبر الأغشية في الكلية. ويبين التفاعل التالي أول تفاعل في هذه الدورة:

حمض أميني+ GSH ← جاما جلوتاميل الحمض الأميني + سيستينيل الجليسين

يساعد هذا التفاعل على نقل بعض الأحماض الأمينية عبر الغشاء البلازمي، ثم يحلمه الحمض الأميني عن معقده ليرتبط مع GSH، ويعاد تخليق GSH من سيستينيل الجليسين. وتوجد ناقلة جاما ـ جلوتاميل GGT (الإنزيم المحفز للتفاعل السابق) في الغشاء البلازمي للخلايا النبيبية الكلوية وفي الشبكة الهيولية الباطنة للخلايا الكبدية. ويتصف هذا الإنزيم بقيمة تشخيصية لأنه يتحرر إلى الدم من الخلايا الكبدية في الأمراض الكبدية الصفراوية المختلفة.

4 – التفاعلات الأخرى: تعد الأستلة والمثيلة أهم تفاعلين:

أ – الأستلة (Acetylation):يمثلها التفاعل التالي:

X + أسيتيل التميم A ← أسيتيل X + التميم A

حيث يمثل X جزيئاً أجنبياً بيولوجياً. وكما هو الأمر في تفاعلات الأستلة الأُخرى، يكون أسيتيل التميم A (الأسيتات الفعالة) هو مانح الأسيتيل. وتتحفز هذه التفاعلات بنواقل الأسيتيل الموجودة في عصارة خلايا مختلف الأنسجة لا سيما الكبد. ويتعرض عقار الإيزونيازيد المستخدم في معالجة السل للأستلة. وتوجد أنماط متعددة الأشكال من نواقل الأسيتيل، وهذا ما يجعل الأفراد يصنفون إلى مؤستلين بطيئين أو سريعين مما يؤثر في معدل تصفية الأدوية (كالإيزونيازيد) من الدم. ويكون المؤستلون البطيئون أكثر عرضة لبعض تأثيرات الإيزونيازيد السمية لأن الدواء يبقى فترة أطول في أجسامهم.

ب – المَثْيَلة (Methylation) يخضع القليل من الجزيئات الأجنبية بيولوجياً للمثيلة بفعل نواقل الميثيل التي تستخدم S– أدينوزيل الميثيونين (الشكل 32-21) كمانح للميثيل.

تتأثر أنشطة الإنزيمات المستقلبة للجزيئات الأجنبية بيولوجياً بالعمر و الجنس و عوامل أخرى:

تؤثر عوامل مختلفة في أنشطة الإنزيمات التي تؤيض الجزيئات الأجنبية بيولوجياً. ويمكن أن تختلف أنشطة هذه الإنزيمات بشكل هام بين الأنواع. وهكذا، يصعب مثلاً تعميم مدى السمية المحتملة أو التسرطن المحتمل الناجم عن الجزيئات الأجنبية بيولوجياً على الأنواع المختلفة. وهناك فوارق هامة في الأنشطة الإنزيمية بين الأفراد، ويبدو أن الكثير منها ينجم عن عوامل وراثية. وتختلف أنشطة بعض هذه الإنزيمات حسب العمر والجنس أيضاً.

يمكن أن يؤدي دخول جزيئات أجنبية بيولوجياً مختلفة (كالفينوباربيتال أو PCBs أو بعض الهيدروكربونات) إلى تحريض إنزيمي؛ ولذلك فمن المهم معرفة ما إذا كان الشخص قد تعرض لهذه العوامل المحرضة أم لا عند تقييم الاستجابات الكيميائية البيولوجية لهذه الجزيئات الأجنبية بيولوجياً. ويمكن لهذه الجزيئات أن تثبط أو تنشط فعالية الإنزيمات المستقلبة لها. ومرة أخرى نقول إن هذا قد يؤثر في جرعات بعض الأدوية التي تعطى للمرضى. كما قد تؤثر أمراض مختلفة (كتشمع الكبد) في أنشطة الإنزيمات المستقلبة للأدوية مما يستدعي أحياناً تعديل جرعات مختلف الأدوية لدى المصابين بهذه الاضطرابات.

تشتمل الاستجابات للجزيئات الأجنبية بيولوجياً على تأثيرات دوائية و سمية و مناعية و مسرطنة:

تتأيض الجزيئات الأجنبية بيولوجياً في الجسم بالتفاعلات الموصوفة أعلاه. وعندما يكون الجزيء الأجنبي بيولوجياً دواءً فقد تحوله تفاعلاتُ الطور الأول إلى شكله الفعال أو تنقص فعاليته أو تنهيها إذا كان أصلاً فعالاً دوائياً من دون أن تتأيض. وتقع التأثيرات المختلفة الناتجة عن الأدوية في مجال دراسة علم الأدوية؛ وهنا يجب أن نقدر أن الأدوية تؤثر بشكل رئيسي من خلال الآليات الكيميائية الحيوية. ويلخص (الجدول 61-2) أربعة تفاعلات هامة للأدوية تدل على فروق

مـحـددة وراثيـاً في البنى الإنزيمية والبـروتينيـة بين الأفـراد؛ ويدعى هذا الميـدان من الدراسة باسم «علم الوراثة الدوائي».

الإنزيم أو البروتين المتأثر	التفاعل أو النتيجة
نازعـة هيـدروجـين الجلوكـوز ـ 6 ـ فسـفـات (G6PD) [طفرات] (MIM305900)	فقر دم انحلالـي يتلو تناول بعض الأدوية، مثل البريماكين .
قناة إطلاق أيونات الكالسـيـوم (مـسـتـقـبلة الريانودين) في الشبكة الـهيولـيـة العضـلية [طفرات] (MIM180901)	فـرط الحـرارة الخـبـيث (MIM145600) بعـد إعطاء مبنجات معينة (مثل الهالوتان).
CYP2D6 (تعدد الأشكال) (MIM124030)	أيض بطيء لبعض الأدوية (مثل الديبريسوكين) مما يؤدي إلى تراكمها.
CYP2A6 [تعدد الأشكال] (MIM122720)	اضـطراب أيض النيكوتين مما يؤدي إلى وقـاية من التحول إلى مدخن معتمد على التبغ.

الجدول 2-61 : بعض التفاعلات الدوائية الهامة الناجمة عن إنزيمات أو بروتينات طافرة أو متعددة الأشكال [1].

(1) درسنا عوز G6PD في (الفصلين 22 و 60)، وفـرط الحـرارة الخـبيث في (الفصل 58). ويساهم جين واحد على الأقل ـ غير ذلك الذي يرمز مستقبلة الريانودين ـ في بعض حالات فـرط الحـرارة الخـبيث. وتـتـوفـر عـدة أمثل أخـرى للتـفـاعـلات الدوائيـة المعـتـمـدة علـى تعدد الأشكال أو الطفرات.

تكون بعض الجزيئات الأجنبية بيولوجياً سامة جداً حتى بالمستويات المنخفضة (مثل السيانيد). وهناك من جهة أخرى القليل من الجزيئات الأجنبية بيولوجياً، بما في ذلك الأدوية، لا تمارس تأثيرات سمية إذا أعطيت بمقادير كافية. وتغطي سمية

الجزيئات الأجنبية بيولوجياً طيفاً واسعاً من التأثيرات؛ ولكن هناك ثلاثة أنماط عامة من هذه التأثيرات (الشكل 61-1) ذكرت بإيجاز هنا بسبب علاقتها مع أيض الجزيئات الأجنبية بيولوجياً.

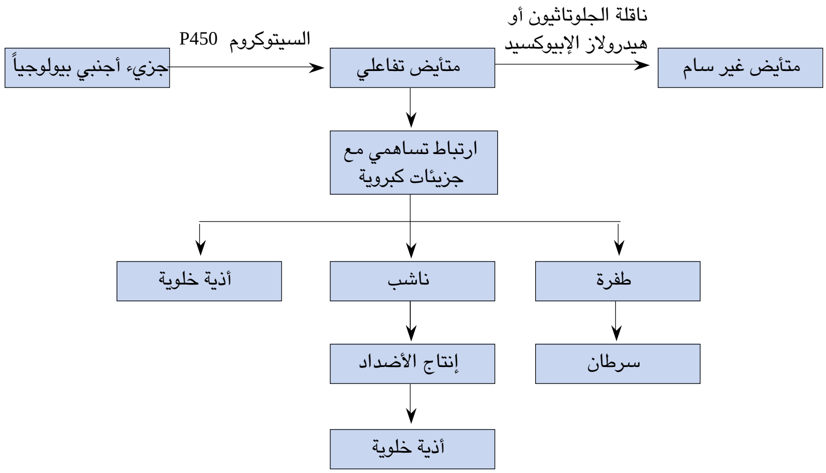
التأثير الأول هو الأذية الخلوية (تسميم الخلايا Cytotoxity) التي قد تكون شديدة بما يكفي للتسبب في موت الخلية. وهناك عدة آليات تؤذي من خلالها الجزيئات الأجنبية بيولوجياً الخلايا. وسنذكر هنا تلك التي يحدث فيها ارتباط تساهمي مع الجزيئات الكبروية الخلوية لأنواع تفاعلية من الجزيئات الأجنبية بيولوجياً تنتج عن الأيض؛ وتشتمل هذه الأهداف الجزيئية الكبروية على الدنا (DNA) والرنا (RNA) والبروتين. وإذا كان الجزيء الكبروي الذي يرتبط به الجزيء الأجنبي بيولوجياً ضرورياً لبُقيا الخلية على المدى القصير، مثل بروتين أو إنزيم ما يساهم في بعض الوظائف الخلوية الحرجة كالفسفتة الأكسدية أو تنظيم نفوذية الغشاء البلازمي، عندها تتضح التأثيرات الشديدة على الوظيفة الخلوية بسرعة واضحة.

ثانياً: يمكن أن يرتبط النوع التفاعلي من الجزيء الأجنبي بيولوجياً مع بروتين ما فيغير استضداده (Antigenicity). ويقال عن الجزيء الأجنبي بيولوجياً أنه يعمل كناشب (Hapten) أي كجزيء صغير لا يستطيع هو بنفسه أن ينبه تخليق الضد لكن يرتبط معه بعد تخليقه. ويمكن للأضداد الناتجة أن تؤذي الخلية بواسطة آليات مناعية عديدة تؤثر تأثيراً واضحاً في العمليات الكيميائية الحيوية السوية في الخلية.

ثالثاً: يعتقد أن لتفاعلات المسرطنات الكيميائية المنشطة مع الدنا (DNA) أهمية كبيرة في التسرطن الكيميائي (الفصل 62). وحتى تصبح مسرطنة، تتطلب بعض المواد الكيميائية (مثل البنزو ألفا بيرين) تنشيطاً بإنزيمات الأكسجيناز الأحادية والإنزيمات الأخرى المستقلبة للجزيئات الأجنبية بيولوجياً في الشبكة الهيولية الباطنة (ولذلك تدعى هذه المواد بالمسرطنات غير المباشرة). وبذلك تساعد فعالية الأكسجيناز الأحادية الإنزيمات الأخرى المؤيضة للأجسام الأجنبية بيولوجياً على تحديد ما إذا كانت هذه المركبات ستصبح مسرطنة أم «ستزال سميتها». ويمكن أن

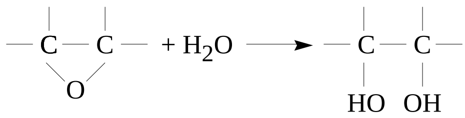
تتفاعل مواد كيميائية أخرى (مثل مختلف العوامل المؤلكلة) مباشرة (مسرطنات مباشرة) مع الدنا (DNA) دون الخضوع لتنشيط كيميائي داخل الخلية.

يعد إنزيم هيدرولاز الإيبوكسيد هاماً لأنه يمكن أن يمارس تأثيراً وقائياً ضد بعض المسرطنات. وتتكون الإيبوكسيدات كنواتج لفعل بعض إنزيمات الأكسجيناز الأحادية في بعض ركائزها من طلائع المسرطنات.



الشكل 61-1 : مخطط مبسط يبدي كيفية حدوث أذية خلوية بسبب أيض جزيء أجنبي بيولوجياً؛ وهذه الأذية هي إصابة مناعية أو سرطان. ويتم في هذه الحالة تحفيز تحول الجزيء الأجنبي بيولوجياً إلى متأيض تفاعلي بواسطة السيتوكروم P450، ويحفز إنزيم S – ناقلة GSH أو هيدرولاز الإيبوكسيد تحويل المتأيض التفاعلي (مثل الإيبوكسيد) إلى متأيض غير سام.

وتعد الإيبوكسيدات شديدة التفاعلية والتطفير أو السرطنة أو كلاهما. وتوجد هيدرولاز الإيبوكسيد، مثل السيتوكروم P450، في أغشية الشبكة الهيولية الباطنة، وتؤثر في هذه المركبات محولة إياها إلى مركبات أقل تفاعلية بكثير. ويمكن تمثيل التفاعل المحفز بهيدرولاز الإيبوكسيد كما يلي:



ثنائي هيدرو ديول إيبوكسيد

يؤمل أن تؤدي المعرفة الإضافية بالسيتوكرومات P450 والإنزيمات الأُخرى المستقلبة للجزيئات الأجنبية بيولوجياً إلى تحسين الطرق الخاصة بتقويم سلامة الأدوية والمساعدة في تجنب التأثيرات الدوائية غير المرغوبة والمساعدة في التخلص من الملوثات البيئية ذات السمية الكامنة. ومن المحتمل أن تتطور الاختبارات المعتمدة على الدنا (DNA) للمساعدة في تحري الأفراد الحاملين لطفرات تؤدي إلى تفاعلات جانبية خطيرة تجاه بعض الأدوية.

الخلاصة:

تعد الجزيئات الأجنبية بيولوجياً مركبات كيميائية غريبة عن الجسم، مثل الأدوية والمضافات الغذائية وملوثات البيئة؛ واكتشف منها أكثر من 200000 جزيء. وتستقلب الجزيئات الأجنبية بيولوجياً في طورين؛ ويكون التفاعل الرئيسي في الطور الأول هو الهدركسلة (إضافة الهيدروكسيل) التي تحفزها ضروب مختلفة من إنزيمات الأكسجيناز الأحادية التي تدعى أيضاً باسم السيتوكرومات P450. وفي الطور الثاني، يجري قرن الأنواع المضاف إليها الهيدروكسيل مع ضروب مختلفة من المركبات الأليفة للماء كحمض الجلوكورونيك أو السلفات أو الجلوتاثيون. وتجعل عملية الارتباط في هذين الطورين من المركبات الأليفة للشحوم مركبات ذوابة في الماء يمكن طرحها من الجسم.

تحفز السيتوكرومات P450 تفاعلات تدخل ذرة واحدة من الأكسجين المشتق من الأكسجين الجزيئي إلى الركيزة، فنحصل على مشتق هيدروكسيلي. وتساهم جزيئات NADPH ومختزلة السيتوكروم P450 في آلية التفاعل المعقدة. وجميع السيتوكرومات P450 هي من البروتينات الهيمية، وتتصف عموماً بنوعية واسعة تجاه الركيزة فتعمل على الكثير من الركائز خارجية المنشأ وداخلية المنشأ. وهي

تمثل أكثر حفاز حيوي متنوع معروف. وقد وجدت أعضاء 11 فصيلة من السيتوكرومات P450 في نسيج الإنسان. وتتوضع السيتوكرومات P450 عموماً في الشبكة الهيولية الباطنة للخلايا، ويكون الكبد غنياً بها بشكل خاص. ويعد الكثير من السيتوكرومات P450 قابلاً للتحريض، ولهذا تطبيقات هامة في بعض الظواهر كالتآثر الدوائي؛ كما توجد السيتوكرومات P450 المتقدرية وتساهم في التخليق الحيوي للكوليسترول والستيرويدات، وهي تستعمل بروتيناً سلفورياً غير هيمي يحتوي على الحديد والكبريت هو الأدرينودوكسين، ولا تحتاج إليه النظائر الصغروية. وتلعب السيتوكرومات P450 بسبب أنشطتها التحفيزية أدواراً رئيسية في تفاعلات الخلايا نحو المركبات الكيميائية، وفي التسرطن الكيميائي.

يجري تحفيز تفاعلات الطور الثاني بإنزيمات مثل نواقل الجلوكورونوزيل ونواقل السلفات ونواقل الجلوتاثيون، باستخدام حمض جلوكورونيل ثنائي فسفات اليوريدين وPAPS (السلفات الفعالة) والجلوتاثيون على الترتيب كعوامل مانحة. ولا يلعب الجلوتاثَيون دوراً هاماً في تفاعلات الطور الثاني فحسب، بل يكون عاملاً مُختَزلاً داخل الخلية أيضاً، ويساهم في نقل بعض الأحماض الأمينية إلى الخلايا.

يمكن أن تؤدي الجزيئات الأجنبية بيولوجياً إلى ضروب مختلفة من التأثيرات الحيوية بما في ذلك الاستجابات الدوائية والتسمم والتفاعلات المناعية والسرطان.

*** References:**

Cytochrome P450 A monograph from the FASEB J.1997 (A compilation of 12 state-of-the-art reviews).

Guengerich FP: Characterization of human cytochrome P450 enzymes. FASEB J 1992;6:745.

Jakoby WB, Ziegler DM: the enzymes of detoxication. *J Biol Chem* 1990;265:20715.

Kalow W, Grant DM: Pharmacogenetics, In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed . Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 1995.

Katzung BG (editor): *Basic & Clinical Pharmacology*, 7th ed. Appleton & lange,1998.

Nebert DW: Polymorphisms in drug-metabolizing enzymes: What is their clinical relevance and why do they exist? *Am J Hum Genet* 60;265;1997.

Nelson DR et al: P450 superfamily: Update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics* 1996;6:1.

Pacifici GM, Fracchia GN (editors): *Advances in Drug Metabolism in Man*. Office for official publications of the European Communities,1995. (Descriptions of the major enzymes involved in drug metabolism in human tissues.)

Pianezza ML el al: Nicotine metabolism defect reduces smoking. *Nature* 1998;393:750.

Riddick DS: Drug Biotransformation. In: *Principles of Medical Pharmacology*, 6th ed. Kalant H, Roschlau W (editors). Oxford Univ Press,1998.

الفصل الثاني والستون

السرطان والجينات الورمية وعوامل النمو

Cancer, Cancer Genes, and Growth Factors

مقدمة:

تتميز خلايا السرطان بثلاث صفات هي فقدان أو تناقص السيطرة على النمو، وغزو الأنسجة الموضعية، والانتشار أو الانتقال إلى أجزاء أخرى من الجسم. وتبدي خلايا الأورام الحميدة تراجعاً في قدرة التحكم بالنمو ولكنها لا تغزو الأنسجة ولا تنتشر إلى أجزاء أخرى من الجسم.

سنناقش في هذا الفصل بعض المظاهر الكيميائية البيولوجية للسرطان. وتشمل المسائل الأساسية تفسير النمو العشوائي للخلايا السرطانية وقدرتها على الغزو والانتشار بمفاهيم كيميائية حيوية. وهناك جينات معينة متحكمة بالنمو وبالتآثرات مع الخلايا السوية تكون شاذة بنيوياً أو تنظيمياً في الخلايا السرطانية. ومازالت معلوماتنا عن التحكم بنمو الخلايا، سواء السوية منها أو الباثولوجية، محدودة للغاية. أما المعلومات حول الجينات النوعية التي تتدخل في تنظيم النمو فهي أكثر ندرة. ويعرف القليل حول الأسس الكيميائية الحيوية للنقائل لذلك سيكون تناولنا لها مختصراً. ويمكن اعتبار بعض أنماط السرطان على الأقل (كما في بعض أنواع ابيضاض الدم) أمثلة على التمايز الشاذ. ومرة أخرى، إننا نعرف القليل فقط عن الأسس الجزيئية للتمايز. ومع ذلك، فمن المعتقد أن المزيد من الأبحاث المتعلقة

بالجينات الورمية (Oncogenes) والجينات الكابتة (Suppressor genes) للورم وعوامل النمو (Growth factors) ومستقبلاتها وأنظمة تصليح الدنا (DNA) وتنظيم الدورة الخلوية سوف تقدم تفسيراً لطبيعة اضطراب السيطرة على النمو أو التمايز (عندما يمكن ذلك) والتآثر الخلوي ـ الخلوي الذي تبديه الخلايا السرطانية. ومؤخراً ظهرت موجة حديثة واسعة من الاهتمام بتوضيح الأساس الجزيئي للقابلية الوراثية للإصابة بالسرطان. وأحد الأمثلة على ذلك عزل الجين *BRCAL* الذي يزيد من القابلية أو الاستعداد للإصابة بسرطان الثدي والمبيض. وسنناقش معظم هذه المواضيع الأخيرة بشيء من التفصيل.

الأهمية الطبية البيولوجية:

يشكل السرطان السبب الثاني الأكثر شيوعاً للموت في الولايات المتحدة الأمريكية بعد الأمراض القلبية الوعائية، حيث يظهر المرض لدى البشر من مختلف الأعمار، ويصيب مختلف الأعضاء، ويتزايد حدوث بعض أنواعه مع تقدم العمر، بحيث كلما عاش الأفراد لفترات أطول من العمر ظهرت الإصابة السرطانية لدى عدد أكبر منهم. وبعيداً عن المعاناة الشخصية، يكون العبء الاقتصادي على المجتمع كبيراً.

قد تسبب بعض العوامل الفيزيائية والكيميائية والحيوية السرطان:

يمكن أن تقسم العوامل المسببة للسرطان إلى ثلاث مجموعات كبيرة: الطاقة المشعة والمركبات الكيميائية والڤيروسات. وعلى العموم، تعمل هذه المركبات من خلال إحداث طفرات أو إقحام جينات جديدة في الخلايا (بواسطة الڤيروسات مثلاً). وهناك أيضاً عدد من الحالات العائلية التي تحدث السرطان. وتنجم هذه عن طفرات في جينات معينة (مثل الجينات الكابتة للأورام). وسنناقش ذلك لاحقاً في هذا الفصل.

قبل دراسة المجموعات السابقة من العوامل، من المهم الإشارة إلى أن طفرات

تلقائية ـ يؤهب بعضها للسرطان ـ تحدث بتواتر قدره 10^{-7}– 10^{-6} لكل خلية في كل جين. ويزداد هذا المعدل في الأنسجة المتكاثرة بمعدل عال يزيد من توليد خلايا سرطانية كامنة بدءاً من الخلايا الجذعية المصابة. ويمكن أن تكون الأذية الأكسدية للدنا (DNA) (الناجمة مثلاً عن إطلاق $OH^•$ من المتقدرات) عاملاً هاماً يزيد من معدل الطفرات.

قد تكون الطاقة المشعة مسرطنة:

تعد الأشعة فوق البنفسجية وأشعة X وأشعة جاما مواد مطفرة (Mutagenic) ومسرطنة (Carcinogenic)، وهي تخرب جزيئات الدنا (DNA) بطرق عديدة، فقد تسبب الأشعة فوق البنفسجية تشكل مثنويات البيريميدين. وقد تتشكل مواضع خالية من البورين أو البيريميدين عند نزع الأسس الموافقة. كما قد يحصل تحطيم أو تكسر في الطاق (الخيط) المفرد أو المضاعف أو الارتباط المتصالب للطيقان. ويفترض أن يكون تخرب الدنا (DNA) هو الآلية الأساسية في التسرطن بالطاقة المشعة لكن التفاصيل غير واضحة. وقد مرت مناقشة تصليح الدنا (DNA) في الفصل 38. وبعيداً عن التأثيرات المباشرة على الدنا، تتسبب كل من أشعة X و جاما في تشكيل الجذور الحرة (Free radicals) ضمن الأنسجة، وتتآثر جذور $OH^•$ وفوق الأكاسيد والجذور الأخرى مع الدنا (DNA) والجزيئات الكبروية الأخرى مما يؤدي إلى تخرب جزيئي يحتمل أن يساهم في التأثيرات المسرطنة للطاقة المشعة.

العديد من المواد الكيميائية مسرطن:

هناك العديد من المركبات الكيميائية المسرطنة (الجدول 62-1) وتظهر بنى ثلاث من أكثرها تعرضاً للدراسة في (الشكل 62-1). وقد جرى اختبار معظم المركبات المذكورة في (الجدول 62-1) بإعطائها للقوارض أو للحيوانات الأخرى. ومع ذلك هناك العديد من هذه المواد تترافق مع السرطان لدى البشر. ويقدر أن 80 ٪ من السرطانات البشرية تنجم عن عوامل بيئية، خاصة الكيميائيات. وقد يحصل التعرض لمثل هذه المركبات بسبب مهنة الشخص (مثل البنزين والأسبست) أو القوت

(مثل الأفلاتوكسين B1 الذي ينتجه فطر الرشاشية الصفراء *(Aspergillus flavus)*، وأحياناً يلوث الفستق السوداني وبعض الأغذية الأخرى) أو نمط الحياة (مثل التدخين) أو بطرق أخرى (كما في بعض الأدوية التي قد تكون مسرطنة). وسنقدم بعض العموميات الهامة فقط، والتي برزت بوضوح خلال الدراسات على المُسرطنات الكيميائية.

الصنف	المركب
الهيدروكربونات العطرية عديدة الحلقات	البنزو (أ) بيرين، ثنائي ميثيل البنزانثراسين
الأمينات العطرية	2 – أسيتيل أمينوفلورين، N – ميثيل – 4 – أمينو آزو بنزين (MAB)
النتروزامينات	ثنائي ميثيل النتروزامين، ثنائي إيثيل النتروزامين.
أدوية مختلفة	عوامل مؤلكلة (مثل السيكلوفسفاميد)، ثنائي إيثيل الستلبسترول
مركبات طبيعية	الداكتينوميسين، الأفلاتوكسين B_1.
مركبات لا عضوية	الزرنيخ، الأسبيست، البيريليوم، الكادميوم، الكروم.

الجدول 1-62: بعض المسرطنات الكيميائية.

أ – البنية (Structure): كلا الجزيئات العضوية واللاعضوية قد تكون مسرطنة (الجدول 1-62). ويوحي تنوع هذه المركبات بعدم وجود مظهر بنيوي عام يسبب التسرطن.

ب – الفعل (Action): لقد نالت المسرطنات العضوية حظاً كبيراً من الدراسة ووجد أن بعضها، مثل الميكلوريثامين (Mechlorethamine) وبيتا ـ بروبيولاكتون

(β-propiolactone)، يتآثر مباشرة مع الجزيئات الهدفية (مسرطنات مباشرة) في حين يتطلب بعضها الآخر الخضوع لعمليات أيضية قبل أن تصبح مسرطنة (طلائع المسرطنات) (Procarcinogens) (الفصل 61). وتدعى العملية التي تشمل تفاعلات إنزيمية تحول طليعة مسرطنة إلى مسرطن فعال بالتنشيط الأيضي (Metabolic activation). ويدعى أي من المركبات الوسيطة المتشكلة بالمُسرطنات الدانية أو المباشرة (Proximate) (وقد يكون مركب أو أكثر). وأما المركب الأخير الذي يتفاعل مع مكونات الخلية (كالدنا (DNA) فيدعى المسرطن النهائي (Ultimate). ويمكن أن يعبر عن التتالي المحتمل كما يلي:

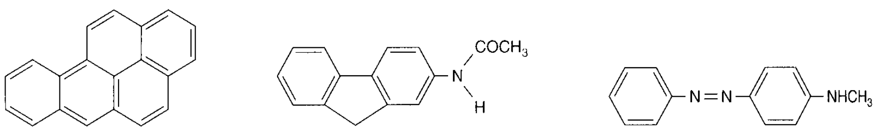
طليعة مسرطن ← مسرطن دان ← مسرطن نهائي

ولا تكون طليعة المسرطن بحد ذاتها فعالةً كيميائياً في حين يكون المسرطن النهائي شديد التفاعلية على الأغلب. ويحتاج تحول طليعة المسرطن «2 – أسيتيل أمينو فلورين (2-AAF)» إلى مسرطن نهائي (أي إلى الإستر الكبريتي «N– هيدروكسي AAF» إلى تفاعلين على الأقل. ونذكر هنا تعميماً هاماً يشير إلى أن المسرطنات النهائية تكون عادة أليفة للإلكترونات (Electrophiles) (أي جزيئات ناقصة الإلكترونات) تهاجم بسرعة المجموعات الأليفة للنوى (الغنية بالإلكترونات) في الدنا (DNA) والرنا (RNA) والبروتينات.

جـ – أيض المسرطنات الكيميائية: يتطلب أيض طلائع المسرطنات وغيرها من الجزيئات الأجنبية بيولوجياً (Xenobiotics) وجود إنزيمات الأكسجيناز الأحادية والترانسفيراز (الناقلات) (الفصل 61). والإنزيمات المسؤولة عن التفعيل الأيضي لطلائع المسرطنات هي بشكل رئيسي أنواع من السيتوكروم P450 تتوضع في الشبكة الهيولية الباطنة، وهي نفسها الإنزيمات المسؤولة عن أيض الجزيئات الأجنبية بيولوجياً الأخرى كالأدوية والملوثات البيئية (مثل PCBS). وتتأثر أنشطة الإنزيمات المؤيضة للمسرطنات الكيميائية بعدة عوامل نذكر منها النوع والاعتبارات الوراثية والعمر والجنس. ويساعد اختلاف أنشطة هذه الإنزيمات على تفسير

الفوارق في القدرة المسرطنة للكيميائيات على مختلف الأنواع، وكذلك على مختلف الأفراد في النوع الواحد. وقد جرت مناقشة العديد من النقاط السابقة بتفاصيل أوسع في (الفصل 61).

د – الارتباط التساهمي (Covalent binding): عندما تعطى المُسرطنات الكيميائية للحيوانات أو تطبق على الخلايا المزروعة، يمكن أن يلاحظ (مثلاً، عند استعمال مُسرطنات مشعة) ارتباطها أو ارتباط مشتقاتها تساهمياً مع الجزيئات الكبروية الخلوية بما فيها الدنا (DNA) والرنا (RNA) والبروتينات. وقد جرى تحديد الطبيعة الكيميائية للمعقدات المقربة (adducts) المتشكلة من التآثر بين بعض المسرطنات الكيميائية النهائية وجزيئاتها الهدفية. وتركزت أكثر الدراسات على النواتج المتشكلة مع الدنا (DNA). ولقد لوحظ أن هذه المسرطنات تتآثر مع البورين أو البيريميدين أو المجموعات الفُسفودَايسترية للدنا (DNA). كما لوحظ أن الموقع الأكثر تعرضاً للهجوم هو الجوانين، وأن العديد من المسرطنات يضاف إلى الذرات N_2 و N_3 وN_7 و O_6 و O_8 لهذا الأساس.



الشكل 62-1: بنية ثلاثةٍ من المُسرطنات الكيميائية الهامة المستخدمة تجريبياً.

هـ – تأذي الدنا (Damage to DNA): يمكن أن يؤدي التآثر التساهمي بين المسرطنات المباشرة أو المسرطنات النهائية مع الدنا (DNA) إلى أنماط مختلفة من الأذية. ويمكن تصليح هذه الأذية كما ذكر في (الفصل 38). ورغم وجود جمل التصليح، تستمر بعض تحويرات الدنا (DNA) التي أحدثتها المسرطنات الكيميائية

لفترات طويلة نسبياً من الزمن. ومن المحتمل أن تكون هذه الآفات غير المصححة الدائمة ذات أهمية خاصة في إحداث طفرات أساسية للتسرطن.

و – المطفرات (Mutagens): معظم المسرطنات الكيميائية مطفرة. وقد أمكن البرهنة على ذلك باستعمال مقايسة أميس (Ames) (انظر لاحقاً) واختبارات أخرى. وعلى المستوى الجزيئي، لوحظ أن حوادث الانتقال (Transitions) والتبدال (Transversions) والأنماط الأخرى من الطفرات (الفصلان 38 و 40) تحصل بعد تعرض جراثيم معينة لمسرطنات نهائية. وقد افترض أن تكون بعض أنماط السرطان ناجمة عن طفرات في الخلايا الجسدية المتحكمة في العمليات التنظيمية لهذه الخلايا. وقد ظهرت دلائل مباشرة على ذلك (انظر مناقشة الجينات الورمية والجينات الكابتة للأورام لاحقاً).

وبما أن اختبار القدرة المسرطنة للكيميائيات على الحيوانات عملية بطيئة ومكلفة، فقد طورت اختبارات لتقصي القدرة المسرطنة المحتملة لهذه الكيميائيات ويعتمد معظمها على كشف القدرة المُطَفِّرة لهذه المُسرطنات. وهذه الاختبارات أسرع وأقل كلفة من كشف الأورام في الحيوانات. ولكن، كلاهما غير مثالي لأن الاختبار النهائي للمسرطن يجب أن يظهر قدرته على إحداث الورم لدى الحيوان. ومع ذلك فقد ثبتت فائدة اختبار أميس (Ames) الذي يعتمد على كشف التطفير في تقصي المُسرطنات المحتملة. ويعتمد هذا الاختبار بشكل رئيسي على استعمال سلالة السلمونيلة التيفية الفأرية *(Salmonella typhimurium)* والتي تحمل طفرة (His^-) في أحد الجينات التي ترمِّز للإنزيمات المساهمة في تخليق الهيستيدين. وهكذا، فإن السلمونيلة تعجز عن تخليق هذا الحمض الأميني، والذي يفترض وجوده في الوسط لنمو الجرثومة. فإذا أحدث المسرطن طفرة في موضع طفرة (His^-) فقد تعيد التسلسل الصحيح للجين بحيث يعود إلى (His^+). وبذلك فإن ذرية الجرثومة الناتجة عن هذه الطفرة العكسية يمكنها تخليق الهيستيدين والنمو في الوسط الذي ينقصه الهيستيدين. ويمكن كشف هذه السلمونيلة بنمو هذه الجراثيم على مزارع الآجار.

ومن مشاكل استعمال الجراثيم في اختبارات التطفير أنها لا تحوي طيف إنزيمات الأكسجيناز الأحادية التي توجد في الحيوانات الأعلى. وهكذا، إذا احتاج

المركب للتنشيط حتى يصبح مطفراً أو مسرطناً فقد لا يحدث هذا عند استعمال الجراثيم. وقد حل أميس (Ames) هذه المشكلة بحضن العوامل المطلوب اختبارها مع الطافي بعد المتقدري (Postmitochondrial supernatant) لكبد الجرذ (أي الجزء S-9، وهو الجزء الطافي بعد تثفيل جناسة كبد الجرذ 9000 جاذبية أرضية لفترة مناسبة من الوقت) ويحوي الجزء S-9 على معظم إنزيمات الأكسجيناز الأحادية والإنزيمات الأخرى المطلوبة لتفعيل المطفرات والمسرطنات الكامنة.

أجري اختبار أميس على نحو 90 ٪ من المسرطنات المعروفة، وقد أصبح روتينياً لمثل هذه المركبات قبل أن تستعمل بشكل تجاري. وتجري على المركبات التي تعطي اختباراً إيجابياً اختبارات أخرى بما في ذلك قدرتها على إحداث الأورام لدى الحيوانات.

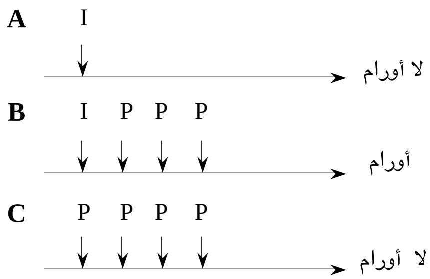
ز – الابتداء والتعزيز (Initiation & promotion): يحصل التسرطن في بعض الأعضاء، كالكبد والجلد، بمرحلتين على الأقل. والمثال الكلاسيكي هو الجلد حيث أنه عند طلي مساحات من جلد مجموعة من الفئران بالبنزو (أ) بيرين (Benzo(a) pyrene) لمرة واحدة لن يحصل أي ورم (الشكل 62-2). ولكن إذا أتبع الطلي بتطبيق لاحق لزيت الكروتون، تظهر مباشرة العديد من الأورام. وإذا طبق زيت الكروتون وحده عدة مرات فلن يؤدي إلى أية أورام أيضاً. ولقد أدى التطبيق المتنوع لهذا البروتوكول الأساسي إلى التوصل للنتائج التالية:

1 – تدعى مرحلة التسرطن التي تحدث بعد تطبيق البنزو (أ) بيرين مرحلة «الابتداء Initiation»، ويبدو أنها مرحلة سريعة وغير قابلة للعكس ويظن بأنها تؤدي إلى تحوير في الدنا (DNA) غير قابل للعكس قد يؤدي إلى طفرة أو أكثر. ولذلك يسمى البنزو (أ) بيرين «عامل ابتداء» (Initiating agent) أو المبدئ (Initiator).

2 – وأما المرحلة الثانية فهي أكثر بطئاً (أشهر أو سنين)، وتنجم عن تطبيق زيت الكروتون، وتسمى مرحلة «التعزيز»، ويدعى زيت الكروتون عامل التعزيز أو «المعزاز Promoter». والمعزازات غير قادرة على إحداث عملية الابتداء.

3 – ومعظم المسرطنات قادرة على العمل كعوامل ابتداء وتعزيز في آن واحد.

يستطيع عدد كبير من المركبات، بما فيها الفينوباربيتال والسكارين، أن تعمل كمِعزازات في أعضاء مختلفة. والعامل الفعال في زيت الكروتون هو مزيج من إسترات الفوربول، وأكثر إسترات الفوربول نشاطاً هو 12 – O – رباعي ديكانويل الفوربول – 13 – أسيتات (TPA) الذي يملك تأثيرات عديدة. والملاحظة الأكثر أهمية هنا هي أن كيناز البروتين C تستطيع العمل كمستقبل للمركب TPA. وقد يؤدي تحريض فعالية هذا الإنزيم بتآثره مع TPA إلى فسفتة العديد من بروتينات الغشاء مما يؤدي بدوره إلى إحداث تأثيرات على وظائف النقل والوظائف الأخرى كالانقسام الخلوي. وتربط هذه النتيجة بين فعل بعض معزازات الأورام وحقل الإشعار (التنبيغ) عبر الأغشية (انظر مناقشة عوامل النمو لاحقاً). ويبدو أن العديد من مِعزازات الورم تعمل على إحداث تغييرات في التعبير الجيني، ولكن مازالت الآليات الكاملة التي تؤثر المعزازات بها على الخلايا الابتدائية لتحولها إلى خلايا ورمية بحاجة إلى بحث أعمق.



الشكل 2-62: ترسيم لمرحلتي الابتداء والتعزيز في إحداث سرطان الجلد. A: وضع المبدئ (مثل البنزو (أ) بيرين) لمرة واحدة على جلد عدد من الفئران؛ B: وضع المعزاز (مثل زيت الكروتون) لعدة مرات بفاصل أسبوعي مثلاً، وذلك بعد وضع المبدئ؛ C: تطبيق المعزاز عدة مرات بدون المبدئ. وقد تم تنويع هذا البروتوكول وإجراء العديد من التجارب تعتمد كلها على تعديل المبدأ الأساسي للابتداء والتعزيز (المبدئ، P: المعزاز).

الدنا (DNA) هو الجزيء الكبروي المحوري في عملية التسرطن:

تدعم الملاحظات التالية هذه الحقيقة:

1 – الخلايا السرطانية تولد خلايا سرطانية. أي أن التغيرات الأساسية المسؤولة عن السرطان تنتقل من الخلايا الأم إلى الخلايا البنت، وهذا ما يتماشى مع سلوك الدنا (DNA).

2 – يعمل التشعيع، وكذلك المسرطنات الكيميائية، على تخريب الدنا (DNA)، وكلاهما قادر على إحداث الطفرات.

3 – تبدي العديد من خلايا الأورام صبغيات شاذة.

4 – تشير تجارب الإعداء العبوري (Transfection) (انظر لاحقاً) إلى أن الدنا (DNA) المنقى (الجينات الورمية) من الخلايا السرطانية يمكن أن يحول الخلايا السوية إلى خلايا سرطانية «كامنة».

5 – تم عزل الجينات التي تزيد من الاستعداد للسرطان، ومع ذلك تلعب بعض عوامل التخلق المتوالي (Epigenetic) مثل مَثْيَلَة الدنا (DNA Methylation) دوراً في عملية التسرطن.

إن بعض ڤيروسات الدنا (DNA) والرنا (RNA) مسرطنة:

يكون مجين (جينوم: Genome) الڤيروسات المسرطنة إما دناً (DNA) أو رنا (RNA) (الجدول 62-2). وسنذكر هنا بعض الملامح الهامة فقط لأهم أفراد هذين الصنفين من الڤيروسات.

لعبت كل من ڤيروس البوليوما أو ڤيروس الورم المتعدد (Polyomavirus) والڤيروس SV40 دوراً هاماً في تطوير فكرتنا عن التسرطن الڤيروسي رغم عدم مساهمتها في إحداث الأورام البشرية، وكلاهما من الڤيروسات الصغيرة (تحوي مجيناً لا يزيد على 5 كيلو أساس)، ويرمز المجين الحلقي لها 5-6 بروتينات فقط. وبوجود ظروف محددة، يؤدي إعداء (إصابة) خلايا ملائمة بهذه الڤيروسات إلى

تحولها السرطاني الذي تساهم فيه، كما هو معروف، بروتينات ڤيروسية نوعية. ففي حالة SV40، تعرف هذه البروتينات (والتي تدعى مستضدات، لأنها اكتشفت بطرائق مناعية) باسم T (« T كبيرة») و t (« اصغيرة»)، أما في حالة الڤيروسات التورامية، فتعرف باسم Tو T المتوسطة (mid -T) و t (وتشير T إلى حقيقة أن أول هذه البروتينات اكتشف في الأورام (Tumors)) والسؤال الذي ما زال قيد البحث هو كيف تسبب هذه البروتينات التحول الخبيث؟ من المعروف أن المستنضدات T ترتبط بالدنا (DNA) بشدة وتسبب تغيراً في التعبير الجيني. وتبدي هذه البروتينات تأثيرات تعاونية (Cooperative) مما يشير إلى أن التحول يحتاج إلى تغير في أكثر من مجرد تفاعل أو عملية واحدة.

تسبب بعض أنماط الڤيروسات الغدية (Adenoviruses) تحولاً في خلايا حيوانية معينة، وهذا ينطبق على ڤيروس إبشتاين ـ بار (Epstein- Barr) الذي يترافق مع لمفومة بوركت (Burkitt's) والسرطانة الأنفية البلعومية عند الإنسان (Nasopharyngeal carcinoma) وقد تترافق ڤيروسات التهاب الكبد B مع بعض حالات سرطان الكبد لدى الإنسان.

وبما أن معظم المعلومات حول الجينات الورمية قد برزت نتيجة دراسة الڤيروسات الورمية المحتوية على الرنا (RNA) (الڤيروسات القهقرية (Retroviruses)، انظر لاحقاً)، فإن المناقشة التالية للجينات الورمية تعود بأغلبها إلى هذه الڤيروسات.

تحصل تغيرات مورفولوجية (شكلية) وكيميائية حيوية عند حدوث التحول الخبيث:

عندما يتم إعداء (Infection) الخلايا المزروعة بڤيروسات ورمية محددة، قد يحصل لها تحول سرطاني. ويعرض (الجدول 62-3) معظم التغيرات الشكلية والكيميائية الحيوية التي تحصل نتيجة هذا التحول. وتؤثر هذه التغيرات على شكل الخلية وحركتها والتصاقها بطبق الزرع ونموها وعلى العديد من العمليات الكيميائية الحيوية فيها. وتعكس هذه التغيرات العمليات البدئية التي تسبب ـ

والتغيرات الثانوية التي تنشأ عن ـ التحول من الحالة السوية إلى الحالة الخبيثة. وقد أصبح للقدرة على محاكاة التحول مع اكتساب صفات الخباثة أهمية بالغة في أبحاث السرطان. ومع ذلك، فإن اكتساب الخلايا لتلك التحولات التي تعرف بمجموعها بالتحول (Transformation) لا يعني بالضرورة بأن هذه الخلايا سوف تبدي الخصائص البيولوجية نفسها لخلايا الورم ضمن الكائن الحي. وحتى يمكن اعتبارها منشئة للسرطان، يجب أن تؤدي هذه الخلايا إلى إحداث ورم عند حقنها لحيوان مضيف ما مناسب.

الصنف	الأعضاء
ڤيروسات الدنا (DNA) البابوڤية	الڤيروسات التورامية، ڤيروس SV40، ڤيروسات الورم الحليمي البشري (مثال HPV-16).
الغدية	الڤيروسات الغدية 12 و 18 و 31.
الهربسية	ڤيروس إبشتاين ـ بار
الدنا الكبدية	ڤيروس التهاب الكبد B.
ڤيروسات الرنا (RNA) الڤيروسات القهقرية من النمط C	ڤيروسات الساركومات وابيضاض الدم في الفئران وفي الطيور؛ وڤيروسات ابيضاض الدم اللمفاوي في الإنسان بالخلايا T من النمطين و II.
الڤيروسات القهقرية من النمط B	ڤيروسات أورام الثدي لدى الفئران

الجدول 62-2: بعض الڤيروسات الورمية الهامة.
الڤيروسات الأساسية ذات العلاقة بالأورام لدى البشر هي ڤيروسات إبشتاين بار (لمفومة بوركت، السرطانة الأنفية البلعومية، لمفومة الخلايا البائية B)، وڤيروس التهاب الكبد البائي B (السرطانة الكبدية الخلوية) وڤيروسات الأورام الحليمية البشرية (العديد من الأورام، بما فيها سرطانة عنق الرحم) وڤيروس اللمفومة وابيضاض الدم بالخلايا T البشرية من النمط 1 (ابيضاض الدم بالخلايا T لدى البالغين). وقد ثبت أن السرطانات البشرية المرتبطة بالڤيروسات مسؤولة عن 15 ٪ من حدوث السرطان الإجمالي.

تلعب الجينات الورمية دوراً محورياً في التسرطن:

الجينات الورمية (Oncogenes) هي جينات قادرة على إحداث السرطان، وكان لاكتشافها أثر كبير في الأبحاث حول الآليات الرئيسية المسرطنة. وعرفت هذه الجينات لأول مرة كجينات متميزة للڤيروسات المسببة للورم المسؤولة عن عملية التحول (الجينات الورمية الڤيروسية).

1 – الجينات الورمية لڤيروس ساركومة روس (Rous Sarcoma): لقد أجريت تحاليل لهذه الجينات الورمية ونواتجها بشكل خاص. ويحتوي مجين هذا الڤيروس القهقري على أربعة جينات تسمى *src* و *env* و *pol* و *gag*؛ ويمكن توضيحها كما يلي:

gag	*pol*	*env*	*src*

يرمز الجين *gag* المستضدات النوعية لهذا الڤيروس. وأما *pol* فيرمز إنزيم المنتسخة العكسية. ويرمز *env* لبروتينات سكرية معينة لغلاف الڤيروس. وأما كيناز تيروزين البروتين فهي ناتج *src* (اختصاراً للڤيروس المحدث للساركومة Sarcoma) (causing virus) وهي المسؤولة عن التحول.

وكان لهذه الفكرة الفضل في الكشف عن آليات كيميائية حيوية نوعية (كالفسفتة الشاذة لعدد من البروتينات) قد تفسر ـ جزئياً على الأقل ـ كيف يسبب الڤيروس الورمي التأثيرات المتنوعة للتحول السرطاني. ولم تعرف حتى الآن بروتينات الخلية الحرجة التي تؤدي فسفتتها الشاذة إلى عملية التحول. وقد عرف أحد هذه البروتينات وهو الڤنكولين (Vinculin). وهو بروتين موجود في لويحات الالتصاق البؤرية (وهي بنية تتدخل في عملية الالتصاق ما بين الخلايا). ويمكن أن تفسر الفسفتة الشاذة للڤنكولين في هذه اللويحات استدارة الخلايا ونقص تلاصقها مع الطبقة التحتية (Substratum) أو إلى بعضها بعضاً خلال التحول (الجدول 62-3). ويبدو أن بعض إنزيمات تحلل السكر تكون هدفاً لكيناز تيروزين البروتين *src*، وهذا يتوافق مع ملاحظة أن الخلايا المتحولة غالباً ما تبدي معدلاً زائداً لتحلل السكر. وقد يتآثر ناتج *src* مع الكيناز التي تتوسط فسفتة فسفاتيديل الإينوزيتول إلى

أحادي وثنائي فسفات فسفاتيديل الإينوزيتول مما يزيد من تقلب دورة الإينوزيتيد عديد الفسفات. وعندما يتحلمه فسفاتيديل الإينوزيتول 4، 5 – ثنائي الفسفات بفعل الفسفوليباز C يتحرر اثنان من المراسيل الثانوية (Second messengers) هما ثلاثي فسفات الإينوزيتول وثنائي أسيل الجليسيرول (الفصل 44). ويتواسط المركب الأول إطلاق Ca^{2+} من مواقع خزنه داخل الخلايا (كالشبكة الهيولية البطانة). ويحرض ثنائي أسيل الجليسيرول كيناز البروتين C المرتبطة بالغشاء البلازمي التي تفسفت بدورها عدداً من البروتينات يمكن أن يكون بعضها مكونات لمضخات الأيونات. وقد افترض بشكل خاص أن القلونة الخفيفة للخلية يمكن أن تساهم من خلال تنشيط جملة النقل المتعاكس لأيونات الصوديوم والهيدروجين (الفصل 43) في تنبيه التفتل (Mitosis). وهكذا، يمكن أن يؤثر ناتج *src* في عدد كبير من العمليات الخلوية بقدرته على فسفتة مختلف البروتينات والإنزيمات المستهدفة، وبتنبيه سبيل تخليق عديد الفسفوإينوزيتيدات.

* **التغيرات الشكلية:** تبدي الخلايا المتحولة أشكالاً أكثر استدارة من الخلايا الشاهدة.
* **كثافة متزايدة للخلايا** (فقدان تثبيط النمو بالتماس): تشكل الخلايا المتحولة غالباً عدة طبقات، في حين تشكل الخلايا الشاهدة طبقة واحدة فقط.
* **فقد الحاجة للاستناد:** تستطيع الخلايا المتحولة أن تنمو دون ارتباط مع سطح طبق المستنبت، وغالباً ما تنمو في الآجار
* **فقدان تثبيط الحركة بالتماس:** تنمو الخلايا المتحولة واحدة فوق الأخرى، في حين تتوقف الخلايا السوية عن النمو عندما تصبح بتماس مع الخلية الأخرى.
* **مجموعة من التغيرات الكيميائية الحيوية** بما فيها زيادة معدل تحلل السكر وتغيرات في سطح الخلية (مثل تغيرات تركيب البروتينات السكرية والشحميات السفنجولية السكرية) وإفراز بعض البروتينات.
* **تغيرات في بنية الهيكل الخلوي**، مثل ألياف الأكتين.
* **تضاؤل الحاجة لعوامل النمو**، وغالباً فرط إفراز بعض عوامل النمو في الوسط المحيط.

الجدول 62-3: بعض التغيرات التي تظهر في المستنبتات الخلوية والتي تشير إلى حصول التحولات السرطانية (بعد الإعداء بڤيروس ورمي مثلاً). ومع ذلك، فإن الاختبار الحدي للخباثة هو قابلية الخلايا للنمو بشكل ورمي في الكائن الحي.

2 – كينازات تيروزين البروتين في الخلايا السوية والمتحولة: لقد أدت ملاحظة أن ڤيروس ساركومة روس يحتوي على كيناز تيروزين البروتين إلى التحريض على المزيد من البحث عن فسفتة التيروزين. وبات معروفاً الآن أن معظم الخلايا السوية – إن لم تكن جميعها – تحتوي على نشاط كيناز تيروزين البروتين. وهناك مستقبلات معينة (كمستقبلات عامل النمو البشروي والإنسولين وعامل النمو المشتق من الصفيحات) موجودة في كل من الخلايا السوية والمتحولة تبدي أنشطة لكيناز تيروزين البروتين تتنبه عند التآثر مع لجائنها (انظر مناقشة عوامل النمو لاحقاً). وهذا يعني أن فعاليات إنزيمات كيناز تيروزين البروتين تلعب أدواراً هامة في كل من الخلايا السوية والمتحولة. ويكون مقدار الفسفوتيروزين في معظم الخلايا السوية منخفضاً، لكنه يكون مرتفعاً عادة في الخلايا المتحولة بسبب ڤيروس ورمي يحتوي على كيناز تيروزين البروتين، مع أن المقدار يبقى صغيراً نسبياً في هذه الخلايا (نحو 1 ٪ من إجمالي الأحماض الأمينية المفسفتة [الفسفوسيرين والفسفوثريونين والفسفوتيروزين بشكل رئيسي]).

3 – الجينات الورمية للڤيروسات القهقرية الأخرى: بالإضافة إلى الجينات الورمية لڤيروس ساركومة روس، نعرف الآن أكثر من 20 جيناً مسرطناً من الڤيروسات القهقرية الأخرى. ونواتج نحو نصف هذه الجينات الورمية الڤيروسية هي كينازات بروتينية، معظمها من نمط التيروزين. ويدرج (الجدول 62-4) بعض الجينات الورمية الڤيروسية مع نواتجها. وفي حين أن بعض الجينات المدرجة ترمز كينازات بروتينية فإن البقية ترمز بروتينات أخرى مختلفة ذات أنشطة بيولوجية هامة. ويكون ناتج الجين *erb* - B لڤيروس فرط تأنسجة الحمر الطيري (Avian erythroblastosis) شكلاً مبتوراً من مستقبل عامل النمو البشروي، أما ناتج الجين *sis* لڤيروس ساركومة القرود فهو السلسلة B المبتورة من عامل النمو المشتق من الصفيحات. ويكون ناتج الجين الورمي *fms* لأحد الأنماط الڤيروسية المعزولة من ڤيروس الساركومة الهرية (Feline) عاملاً منبهاً لمستعمرات البلاعم (Macrophage colony - stimulating factor). ومن ناحية أخرى، يكون ناتج الجين الورمي *myc* الموجود عادة في ڤيروسات أورام الخلايا النقوية لدى الدجاج بروتيناً رابطاً للدنا (DNA) يمكن أن يؤثر في ضبط الانقسام الفتيلي (Mitosis). وأما ناتج الجين الورمي *ras*

لڤيروسات ساركومة الجرذ، فإنه يربط النوكليوتيد GTP ويتمتع بنشاط جتباز (GTPase) ويبدو أنه ذو علاقة بالبروتينات G التي تنظم نشاط الإنزيم الغشائي البلازمي الهام: مُحَلَّقَة الأدينيليل (الفصل 44).

4 – **طلائع الجينات الورمية (Proto-oncogene)**: طرح اكتشاف الجينات الورمية الڤيروسية تساؤلاً يتعلق بمنشأ هذه الجينات؛ وقد أظهر استعمال تهجين الأحماض النووية احتواء الخلايا السوية على متواليات دنا (DNA) مشابهة ـ إن لم تكن مطابقة ـ لتلك الجينات الڤيروسية. ويبدو أن الڤيروسات أدمجت بعضاً من جينات الخلية ضمن مجينها الخاص عند مرورها عبر الخلايا. ويشير احتجاز الڤيروسات لهذه الجينات ضمن مجائنها إلى أنها تعطي هذه الڤيروسات ميزات محددة قد تكون على علاقة بصفات النمو المتغيرة للخلايا المحولة

وقد وجد أن المتواليات الخلوية تكون مصانة في مجال عريض من خلايا حقيقيات النوى مما يفترض أنها كانت مكونات هامة في الخلايا السوية. وبالإضافة لذلك، أمكن كشف أنواع للرنا المرسال (mRNA) وبروتينات مشتقة من هذه المتواليات السوية في مراحل تطورها المختلفة أو دورات حياتها. ولذلك، دعيت الجينات الموجودة في الخلايا السوية طلائع الجينات الورمية التي يعتقد أن نواتجها تلعب دوراً هاماً في التمايز السوي وفي العمليات الخلوية الأخرى.

5 – **الجينات الورمية من الخلايا الورمية**: لقد برهنت التجارب التي استخدمت الدنا (DNA) المستخلص من الأورام على وجود الجينات الورمية. ودعيت الطريقة المستعملة لكشف هذه الجينات الورمية الخلوية بنقل (Transfer) الجين أو إعداء الدنا (DNA transfection) وهي تعتمد على حقيقة أن بعض الجينات الموجودة في الأورام قد تسبب إحداث تحول (Transformation) في الخلايا المزروعة «السوية».

يعزل الدنا (DNA) من خلايا الورم ويضاف إلى الخلايا المتلقية (غالباً ما تكون من سلالة الأرومات الليفية الفأرية تعرف بخلايا NIH / 3T3). يتم ترسيب الدنا (DNA) المعزول من خلايا الورم بواسطة فسفات الكالسيوم (لتسهيل عملية الالتقام الخلوي Endocytosis)، وتضاف إلى خلايا NIH / 3T3 في المزرعة النسيجية. وتراقب الخلايا مجهرياً على مدى 1-2 أسبوع لرصد تشكل بؤر من الخلايا

المتحولة؛ فإذا حدث التحول، تتغير مورفولوجية الخلايا NIH / 3T3 من المسطح إلى الدائري وتنمو بشكل بؤر متميزة. وتكرر الطريقة عدة مرات باستعمال الدنا (DNA) المستخلص من الخلايا المتحولة مما يؤدي إلى إنقاص كمية الدنا (DNA) غير المشاركة في التحول وتسهيل التعرف على الجين النوعي المشارك في عملية التحول (مثلاً، بتقنية تلطيخ ساوثرن باستعمال مسبار مناسب (الفصل 42). ولقد تم تمييز عدد معقول من الجينات الورمية الخلوية بهذه الطريقة، وبعضها يقارب الجين الورمي *ras* لڤيروسات الجرذ. وتكون هذه الجينات الورمية إما مماثلة للجينات السوية أو تبدي اختلافاً بنيوياً بسيطاً جداً عن نظائرها السوية (انظر لاحقاً)؛ وفي الحالة الأولى، قد يكون تنظيم التعبير عنها شاذاً في الخلايا السرطانية.

6 – المختصرات الخاصة بالجينات الورمية والخلوية: يستعمل المختصر *onc - c* (الجين الورمي الخلوي؛ مثال *ras-c*) لتسمية الجين الورمي الموجود في الخلايا الورمية. كما يمكن اصطلاحاً، تسمية الأنواع الموجودة في الخلايا السوية (أي طلائعها) بطلائع الجينات الورمية *onc-c* الموافقة (مثلاً طليعة الجين الورمي *ras- c*). وبشكل مشابه، يرمز للجينات الورمية الڤيروسية بالرمز onc-v الجين الورمي الڤيروسي (Viral oncogene)؛ *v-ras* مثلاً، ويشار إلى طلائعها باسم طلائع الجينات الورمية الڤيروسية [طليعة الجين الورمي "v-ras proto-oncogene" v-ras].

تنَشّط طلائع الجينات الورمية إلى جينات ورمية بآليات مختلفة:

سوف نعرض خمس آليات تغير في تعبير طلائع الجينات الورمية أو بنيتها، وتؤدي إلى تحويلها إلى جينات ورمية. ولتسهيل الأمر، سنطلق على عملية زيادة انتساخ الجين (من الصفر أو من مستوى منخفض نسبياً) اسم التفعيل أو التنشيط (Activation). ولعل فهم آليات التفعيل هي من أهم ضروريات فهم الأفكار المعاصرة حول آلية التسرطن.

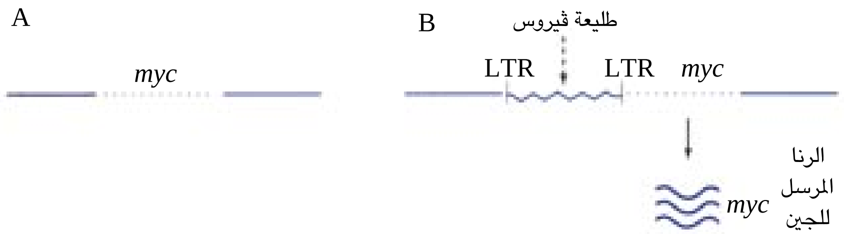
التوضع تحت الخلوي	ناتج الجين الورمي	مصدره	الفيروس القهقري	الجين الورمي
الغشاء البلازمي	كيناز تيروزين البروتين	الفأر	ڤيروس ابيضاض الدم الفأري – أبِلْسُون	*obl*
الغشاء البلازمي	مستقبل EGF المبتور	الدجاج	ڤيروس فرط تنسج الحمر الطيري	*erb-B*
الغشاء البلازمي	كيناز تيروزين البروتين	القط	ڤيروس الساركومة الهرية	*fes*
النواة	عامل انتساخ (AP-1)؛ معقدات مع *jun*	الفأر	ڤيروس الساركومة الفأرية	*fos*
النواة	عامل انتساخ (AP-1)؛ معقدات مع *fos*	الدجاج	ڤيروس ساركومة الطيور	*jun*
النواة	بروتين رابط للدنا (DNA)	الدجاج	ڤيروس الأورام النقوية 29	*myc*
الأغشية مفرزة ؟	PDGF المبتور (السلسلة B)	القرد	ڤيروس ساركومة القرود	*Sis*
الغشاء البلازمي	كيناز تيروزين البروتين	الدجاج	ڤيروس ساركومة روس	*Src*

الجدول 4-62: بعض الجينات الورمية للڤيروسات القهقرية[1].

EGF : عامل النمو البشروي؛ PDG F: عامل النمو المشتق من الصفيحات.

1– لقد أمكن التعرف على أكثر من 20 جيناً ورمياً ڤيروسياً؛ وتشتمل الأنشطة البيولوجية التي ترافق نواتجها البروتينية على عوامل النمو والمستقبلات (مع نشاط كيناز التيروزين أو دونها) والبروتينات G المرتبطة بالغشاء والكينازات البروتينية الهيولية (التيروزين، السيرين/الثريونين) والبروتينات المضادة للموت الخلوي المبرمج (bcl-2) والبروتينات النووية (مثل عوامل الانتساخ). ومن بين الجينات الورمية الهامة التي لم تدرج في الجدول نذكر ras - H و ras - K و ras - N (التي ترمِّز إنزيمات الجتباز (GTPase)) و kit (مستقبل عامل نمو الخلايا الجذعية) و rel (عامل انتساخ).

1 – غـرز المِعـزاز (Promoter insertion): تخلـو بعض الڤـيـروسـات القـهـقـرية من الجينات الورمـيـة (مـثل ڤيروسـات ابيضـاض الدم الطيـرية) ـ ومع ذلك ـ قد تسـبب السـرطان وإن كـان بعـد فـتـرة من الزمن (شـهـوراً وليس أيامـاً) أطول مما تتطلبـه الڤيروسـات المحتوية على جينات ورمية. وكمـا في غيرها من الڤيروسات القـهقرية، عندما يجري إعداء الخـلايا بهذه الڤيروسات يجري إنشـاء نسـخة دنا متمم (cDNA) لمجينهـا الرناوي (RNA) بوسـاطة المنتسـخة العكسـيـة (Reverse transcriptase)، ثم يتم إدمـاج هذا الدنا (cDNA) في مـجين المضـيف، ويدعى cDNA مضـاعف الطاق المدمج بطليعة الڤيروس (Provirus). وتنتهي نسـخ cDNA للڤيروسات القـهقرية في كلتا النهايتين بمتوالية تدعى التكرارات المطرافيـة الطويلة (Long terminal repeats "LTR") كـمـا في بعض التـرانسـبـوزونات (Transposons) (مـثل الجيـنات القـافـزة (Jumping)) الموجودة في الجراثيم والنباتات (الفصل 38). ويبدو أن لهذه المتواليات أهميـة في آليـة اندمـاج الڤيروس في مَجـين المضـيف، ويمكنهـا أن تعـمل كمِعزازات للانتسـاخ (الفصل 39). فـمـثـلاً، بعـد إعـداء اللمـفـاويات البـائيـة للدجـاج ببـعض ڤيروسـات ابيضـاض الدم الطيـرية، تندمج طلائـع الڤيروسات إلى جـانب الجين *myc*. وهذا يؤدي إلى تفـعيل الجين *myc* بأحد التكرارات الطويلة الڤيروسـيـة الواقـعة في الاتجاه 5´منه والتي تعـمل كمِعزاز مما يؤدي إلى انتسـاخ الرنا المرسـال (mRNA) للجين *myc* وترجمته إلى ناتجه البروتيني في هذه الخـلايا (الشكل 62-3) فتنشـأ أورام الخـلايا B، رغم أن الدور الدقـيق لنواتج الجين *myc* في مـجمل العـملية غـيـر واضـح تمامـاً. وتحـصل عـمليات مـشـابهـة بعد إعـداء عدد من الخـلايا بڤـيـروسـات قـهقرية أخرى. وتشـير دلائل حديثة إلى أن الجين C-MYC البشـري يتنشط أيضـاً في سبيل مساهم في سرطان القولون والمستقيم (انظر لاحقاً).

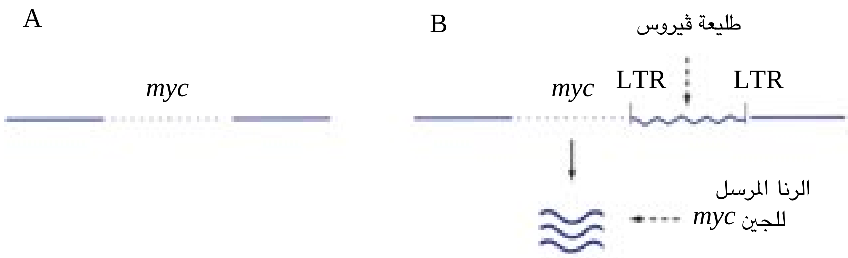


الشكل 3-62 : تمثيل ترسيمي لكيفية تفعيل غرز المِعزاز لطليعة الجين الورمي.
A: كروموسوم الدجاج السوي يظهر جين *myc* معطلاً؛ B: ڤيروس ابيضاض الدم الطيري بعد اندخاله ضمن الكروموسوم بشكله الڤيروسي الطليعي مجاوراً للجين *myc*. ويتوضع تكراره المطرافي اليميني الطويل - LTR الذي يحتوي على مِعزاز قوي – أعلى(Upstream) تسلسل الجين *myc* مباشرة ويُفَعّله مما يؤدي إلى انتساخ الرنا المرسال لجين *myc*. وللتسهيل، جرى رسم طاق واحد فقط من الدنا (DNA)، وحذفت بعض التفاصيل الأخرى.

2 – غرز المحرض (Enhancer insertion): يتم في بعض الحالات غرز طليعة الڤيروس أسفل (Downstream) تسلسل الجين - *myc* أو في أوله (Upstream) ولكن بالاتجاه المعاكس ـ ومع ذلك يتفعل الجين *myc* (الشكل 62-4)! ولا يمكن أن يكون هذا التفعيل عائداً لغرز المِعزاز لأن تسلسل المِعزاز يجب أن يكون أعلى (Upstream) الجين الذي يعمل على زيادة انتساخه، كما يجب أن يكون في الاتجاه الصحيح 5´ 3´. إذن ما الذي يجري؟ الجواب هو على ما يبدو تدخل متواليات محرضة معينة (الفصلان 39 و 41) موجودة في المتواليات المتكررة الطويلة للڤيروسات القهقرية.

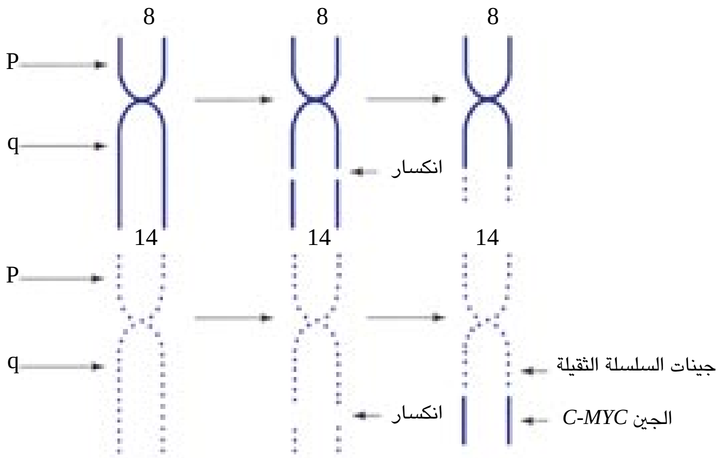
وتساهم الآليتان السابقتان (غرز المِعزاز والمحرض) في التسرطن الڤيروسي. ويمكن تصنيفهما كأمثلة على التطفير الغرزي (Insertional mutagenesis). ويمكن لطلائع جينات ورمية أخرى غير *myc* أن تشارك أيضاً.

3 – الإزفاء الكروموسومي (Chromosomal translocation): كما ذكرنا سابقاً. تبدي الكثير من الخلايا الورمية شذوذات كروموسومية، والإزفاء هو أحد أنماط التغيرات الصبغية الملاحظة في الخلايا السرطانية، وأساسه أن تنشطر شُدْفة من الكروموسوم وتندمج في كروموسوم آخر؛ وإذا أعطى الكروموسوم الثاني مادة منه للأول يحدث ما يسمى الإزفاء المتبادل (Reciprocal). ونصادف إزفاءات تميز خلايا العديد من الأورام؛ وأحدها هو كروموسوم فيلادلفيا (Philadelphia) الذي يشمل الكروموسومين 9 و 22 ويصادف في ابيضاض الدم النقوي المزمن (Chronic myelogenous leukemia)، وينجم عنه توضّع شاذ مجاور للجين *BCR* (جين عنقود الكسر النقطي (Preakpoint cluster gene)) على الكروموسوم 22 مع جزء من الجين *ABL - C* على الكروموسوم 9. وفي الحالة السوية، يرمز الجين *ABL - C* أحد كينازات تيروزين البروتين. ويؤدي هذا التوضع المجاور إلى رنا مرسال خَيْمَري (هجين) يرمز البروتين الاندماجي abl - bcr الذي يبدي زيادة في نشاط كيناز التيروزين. ويحول هذا النشاط الزائد الخلية السوية إلى خلية ابيضاضية، كما تؤدي أشكال أخرى من الإزفاء إلى بروتينات اندماجية تلعب دوراً محورياً في التحول.

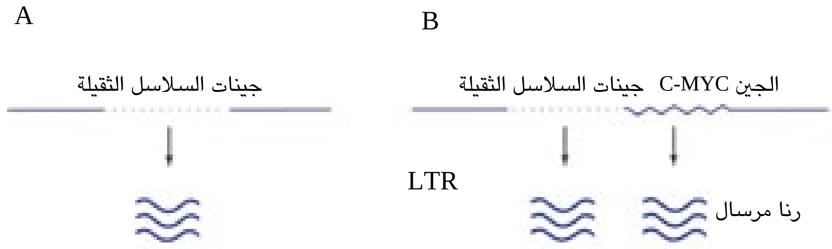


الشكل 4-62 : مخطط ترسيمي لكيفية تأثير غرز المحَرَض في تفعيل الجينات الورمية. A: كروموسوم الدجاج السوي، ويظهر الجين myc غير الفعال؛ B: ڤيروس ابيضاض الدم الطيري بعد اندماجه في الكروموسوم بشكله الطليعي المجاور للجين *myc*. وفي هذا المثال، يكون موضع الفرز أسفل (Downstream) تتابع الجين *myc* تماماً، ولا يستطيع أن يعمل كمِعزاز (الشكل 62-6). بدلاً من ذلك، يعمل تسلسل طليعة الڤيروس كمُحَرِّض مما يؤدي إلى تفعيل الجين *myc* صعوداً (من أول التتابع) وانتساخه. وللتبسيط، جرى رسم طاق واحد فقط من الدنا (DNA) وحذفت التفاصيل الأخرى.

لمفومة بوركت (Burkitt's lymphoma) هي سرطان سريع النمو للخلايا اللمفاوية البائية البشرية. وتترافق بعض حالاته بمثال عن الإزفاء المتبادل (الشكل 62-5) يوضح آلية تفعيل الجينات الورمية الخلوية الكامنة. وتشمل الآلية الكروموسومية 8 و14، ويتم فيها انفصال شدفة من الكروموسوم 8 لتتجه نحو الكروموسوم 14 حاملة معها الجين *C-MYC*. وكما يلاحظ في (الشكل 62-6)، فإن تغيير الموضع الحاصل يضع الجين *C-MYC* (غير الفعال سابقاً) تحت تأثير المتواليات المُعَزِّزة في الجينات المرمزة للسلاسل الثقيلة للجلوبولينات المناعية. ويؤدي هذا التجاور إلى تفعيل انتساخ الجين *C-MYC*. ويبدو أن تخليق كميات كبيرة من البروتين الرابط للدنا المُرَمَّز بالجين *MYC*. يعمل على إرغام الخلية للتوجه نحو التسرطن، ربما من خلال تأثير هذا البروتين في تنظيم الانقسام الفتيلي. وهذه الآلية مشابهة لغرز المحرض فيما عدا أن الإزفاء الكروموسوم (وليس اندماج طليعة الڤيروس) هو المسؤول عن توضع طلائع الجينات الورمية (أي *C-MYC*) تحت تأثير المُحَرِّض.



الشكل 62-5 : مخطط ترسيمي يمثل الإزفاء المتبادل في لمفومة بوركت والكروموسومات المُكتنفة هي 8 و 14 . تنفصم شُدْفة من نهاية الذراع q للكروموسوم 8 وتتحرك باتجاه الكروموسوم 14؛ وبالعكس، تتحرك شُدْفة من الذراع q للصبغي 14 باتجاه الكروموسوم 8. ويكون الجين *C-MYC* ضمن شُدْفة الكروموسوم 8 التي جرى انتقالها إلى الكروموسوم 14 لتصبح مجاورة للجينات المُرَمِّزة للسلاسل الثقيلة للجلوبولينات المناعية، وبالتالي تصبح مُنَشَّطة.



الشكل 6-62 : مخطط ترسيمي يوضح كيف يؤدي الإزفاء في لمفومة بوركت إلى تفعيل الجين الورمي الطليعي *C-MYC*. A: شُدْفة صغيرة من الكروموسوم 14 قبل حدوث الإزفاء؛ وتبدو هذه الشُدْفة وهي تحتوي على الجينات المرمزة للسلاسل الثقيلة للجلوبولينات المناعية؛ B: بعد الإزفاء، يصبح *C-MYC* (غير الفعال في مكانه الأول) تحت تأثير التسلسل المحرض في الجينات المرمزة للسلاسل الثقيلة، وبذلك يتفعل هذا الجين مما يؤدي إلى انتساخه. وللتبسيط، جرى رسم طاق واحد من الدنا (DNA)، وأهملت بقية التفاصيل.

4 – التضخيم الجيني (Gene amplification): يصادف تضخيم الجينات (الفصل 41) في العديد من الأورام. وتتمثل إحدى الطرائق التي تقضي إلى تضخيم الجين بإعطاء الميثوتركسات، الدواء المضاد للسرطان الذي يثبط إنزيم مختزلة ثنائي هيدرو الفوليك. ويمكن لخلايا الورم أن تصبح مقاومة لفعل هذا الدواء. وأساس هذه الظاهرة هو تضخيم جين مختزلة ثنائي هيدرو الفوليك مما يؤدي إلى زيادة في نشاط الإنزيم (ما يربو على نحو 400 ضعف). ويمكن كشف الجينات المتضخمة ذات الطول 1000 ك. أساس أو أكثر كمناطق متجانسة التلون في كروموسوم معين، أو ككروموسومات مضاعفة دقيقة (Double -minute) كروموسومات صغرية يعوزها القسيم المركزي)، وما زالت العلاقة الدقيقة بين مناطق التلون المتجانسة والكروموسومات المضاعفة الدقيقة قيد الدراسة. ويمكن أيضاً لبعض الجينات الورمية الخلوية أن تتضخم بالأسلوب نفسه مما يؤدي إلى تنشيطها. ويمكن للكميات الزائدة من نواتج بعض جينات الأورام (مثل *c-ras*) والناجمة عن تضخيم الجين أن تلعب دوراً في ترقي خلايا الورم إلى حالة أكثر خبثاً (انظر مناقشة ترقي الأورام لاحقاً).

5 – الطفرات النقطية (Point mutations): لقد اكتشف الجين الورمي *v-ras* أصلاً

في بعض الڤيروسات القهقرية الجرذية. ويبدو أن ناتجه عديد ببتيد ذو كتلة جزيئية قدرها 2 ك. دالتون (لذلك يسمى p21) متشابه مع البروتينات G التي تعدل نشاط مُحَلِّقَة الأدينيليل (انظر ما سبق، والفصل 44)؛ وبذلك يلعب دوراً أساسياً في الاستجابة الخلوية للعديد من الهرمونات والأدوية. وقد أظهرت سَلْسَلَة الدنا (DNA) لطليعة الجين الورمي *c-ras* المأخوذ من خلايا بشرية سوية وللجين الورمي *c-ras* المأخوذ من سرطان مثانة بشرية أن هناك اختلافاً في أساس واحد فقط يؤدي إلى استبدال حمض أميني في الموضع 12 من البروتين p21. وقد تم إثبات هذه النتيجة بتحاليل أجريت على جينات *c-ras* مأخوذة من أورام بشرية أخرى؛ وكانت النتائج في كل الحالات متماثلة، فالجين المعزول من الورم أبدى طفرة نقطية واحدة فقط مقارنة بطليعة الجين الورمي *c-ras* إلا أن موضع الطفرة يختلف بعض الشيء بحيث لوحظ استبدال عدد من الأحماض الأمينية الأخرى. ويبدو أن الطفرات في p21 تؤثر على هيئته وتنقص من فاعليته كإنزيم جتباز (GTPase). وقد يؤدي هذا النشاط المنخفض لإنزيم GTPase إلى تحريض مزمن لنشاط مُحَلِّقَة الأدينيليل الذي يتناقص عادة عندما يتشكل GDP من GTP (الفصل 44). ويمكن لهذا التحريض في نشاط مُحَلِّقَة الأدينيليل أن يبدي عدداً من التأثيرات في الأيض الخلوي تتواسطها الكميات المتزايدة من الأمب الحلقي (cAMP)، والتي تؤثر بدورها في العديد من كينازات البروتين المعتمدة عليه. وقد تساعد هذه الأحداث في انحراف ميزان الأيض الخلوي نحو حالة التحول الخلوي أو الحفاظ عليها.

ملاحظات عامة على تفعيل الجينات الورمية:

من بين الآليات الخمس المذكورة سابقاً، تتضمن الأربعة الأولى (غرز المِعزاز وغرز المحرض وإزفاء الكروموسوم والتضخيم الجيني) زيادة كمية ناتج الجين الورمي بعد زيادة انتساخه دون أن يكون هناك تغير في بنية الناتج الجيني. وهذا يعني أن الكميات المتزايدة لناتج الجين الورمي تكفي وحدها لدفع الخلية نحو الخباثة. وأما الآلية الخامسة، أي الطفرة النقطية، فتؤدي إلى تغير في بنية ناتج الجين الورمي دون أن يرافقه بالضرورة أي تغير في كميته. وهذا يؤكد أن وجود بروتين مُنظِّم ذي بنية شاذة في الخلية يكفي لتحويل مسارها نحو التسرطن.

عند تقدير دور الجينات الورمية في السرطان، يجب أن يبقى في ذاكرتنا أن تفعيل هذه الجينات الورمية ليس بالسبيل الوحيد لإحداث الخباثة. وكما سنذكر لاحقاً، فإن اجتماع تفعيل هذه الجينات مع تعطيل الجينات الكابتة للورم هو المسؤول عن سرطان المستقيم والقولون، وربما عن معظم السرطانات. وفي بعض الحالات، قد يكون تفعيل هذه الجينات مجرد حادثة ثانوية مرافقة للتحول أكثر من كونها سببية. وقد تساهم أيضاً تغيرات التخلق المتوالي في بعض الحالات حيث وجد أن بعض المواد الكيميائية التي يبدو أنها لا تغير الدنا (DNA) تكون مُسرطِنة. وهناك ملاحظة هامة هي أن تفعيل *c-ras* في سرطانات الثدي المحرض بالنتروزوميثيل يوريا لدى الجرذان كان ناجماً عن طفرة نوعية (G → A) مما يثبت أن الجينات الورمية تساهم في عمل المُسرطنات الكيميائية. ويبقى الأمر بحاجةٍ إلى المزيد من الأبحاث لتحري المشاركة المحتملة للجينات الورمية في ظاهرة الابتداء والتعزيز وتطور الورم والنقائل.

آليات عمل الجينات الورمية:

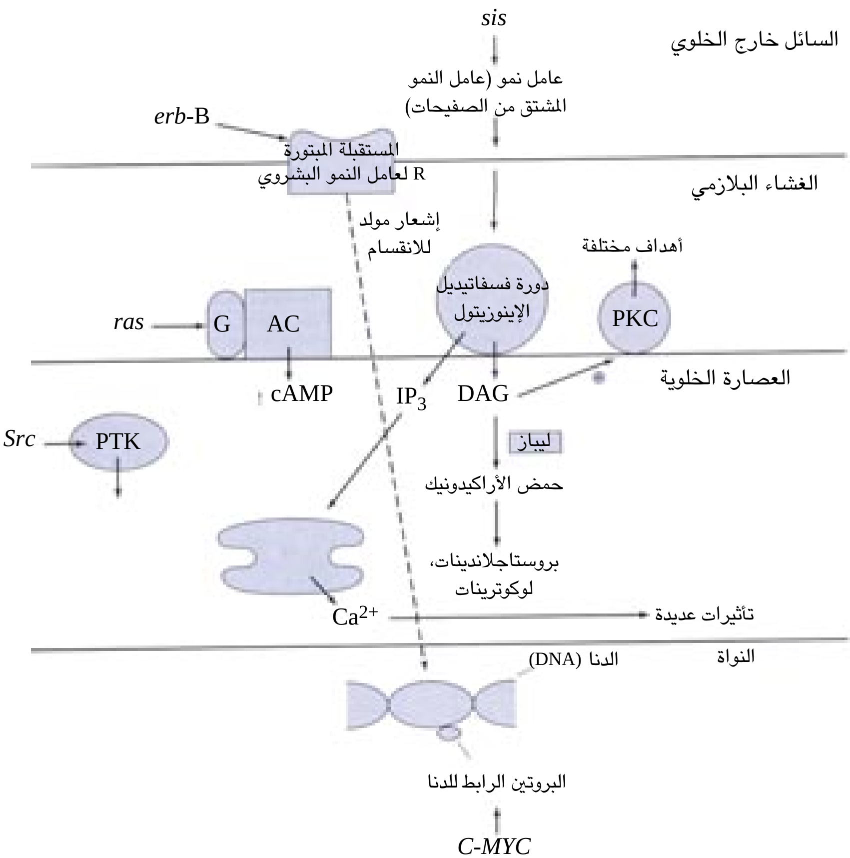
هناك ثلاث آليات عامة يمكن بواسطتها لنواتج الجينات الورمية أن تحرض على النمو (الشكل 62-7). يمكن أن تعمل على السبل داخل الخلوية الرئيسية التي تتحكم بالنمو لاغية اقترانها بالمحرض الخارجي. ومن الأمثلة المعروفة على ذلك (المذكورة آنفاً) ناتج *src* الذي يعمل ككيناز بروتينية، وناتج *ras* الذي يعمل على تحريض نشاط مُحَلِّقَة الأدينيليل، وناتج *myc* الذي يعمل كبروتين رابط للدنا (DNA). ويؤثر كل من هذه النواتج في ضبط الانقسام الفتيلي، حيث يؤثر الاثنان الأولان في حوادث الفسفتة للبروتينات المنظمة. ويعود النقص الكبير في معلوماتنا حول الانقسام الفتيلي إلى أنه ـ حتى وقت متأخر ـ لم نكن نعرف إلا القليل عن المظاهر الجزيئية لتنظيم هذا الانقسام، حتى في الخلايا السوية. وسيعمل التقدم الهائل في معلوماتنا حول السيكلينات (cyclins) وجينات *cdc* (دورة انقسام الخلية (Cell division cycle)) (الفصل 38) على تغيير هذه الحالة بسرعة. وهناك دلائل هامة حديثة على تأثر السيكلينات والكينازات المعتمدة على السيكلين (cdks)

ومثبطات cdk في حالات السرطان، سواء بطفرة أو بشكل ثانوي. وتشتمل مثبطات cdk على أعضاء فصيلة البروتينات المثبطة للكيناز (KIP) (مثل p21 و p27 و p57) وأعضاء مثبطات الفصيلة cdk4 (INK4) (مثل p16) من البروتينات. وقد ذكرت حالات من ارتفاع كمية السكلينات (D وE مثلاً) وطفرات في الجينات المرمزة للسكلينات وأعضاء فصيلة INK4 من البروتينات. وتلعب النواتج البروتينية للجينات الكابتة للأورام (انظر لاحقاً) مثل pRB وP53 وp16 (مثبط لكينازات السيكلين)، والتي تشيع طفراتها في الخلايا السرطانية، دوراً هاماً أيضاً في تنظيم الدورة الخلوية. ويؤمل أن تقود تفاصيل تحليل الجينات والبروتينات المساهمة في تنظيم دورة الحياة إلى إظهار الأهداف الصالحة للمعالجة المضادة للسرطان.

قد تقلد نواتج الجينات الورمية (مثل الجين الورمي *sis*) تأثيرات عامل نمو عديد الببتيد أو تقلد مستقبلاً ارتبط به عامل النمو (مثل الجين الورمي *erb-B*) (انظر لاحقاً). هناك آليات أخرى تعمل من خلالها الجينات الورمية على تحريض النمو ـ يجري حالياً تحديدها وتعيينها.

تعتبر عوامل النمو عديدة الببتيد مولدة للانقسام:

تزداد بسرعة على نحو هائل أهمية دراسة عوامل النمو؛ وقد عزل العديد منها وعرفت خصائصها جزئياً (الجدول 62-5). وحتى وقت قريب، لم تكن تتوفر سوى كميات ضئيلة جداً من معظم عوامل النمو للدراسة؛ أما الآن، فقد جرى تنسيل جينات العديد من عوامل النمو مما سمح بتأكيد ذاتيتها وتصنيع كميات منها بواسطة تكنولوجيا الدنا (DNA) المأشوب. وتؤثر عوامل النمو المعروفة حتى الآن في أنماط مختلفة من الخلايا كخلايا الدم والجملة العصبية والأنسجة المتوسطية والأنسجة الظهارية. وهي تؤدي إلى استجابة مولدة للانقسام في الخلايا الهدفية، رغم ضرورة توفر شروط خاصة لإثبات ذلك كاستعمال الخلايا المحرومة (Depriving) في مزارع المصل مما يجعلها هامدة قبل تعريضها لعوامل النمو. وقد يلعب عامل النمو المشتق من الصفيحات (PDGF) المتحرر من الحبيبات ألفا الصفيحية دوراً في شفاء الجروح. ويبدو أن عوامل نمو متعددة تلعب دوراً رئيسياً



الشكل 62-7 : مخطط ترسيمي يمثل الآليات التي يمكن لنواتج بعض الجينات الورمية أن تغير الأيض الخلوي من خلالها، ومن ثم تحرض النمو. ويظهر الشكل نواتج خمسة ورمية *sis*: يرمز السلسلة B من PDGF و *erb-B* يرمز الشكل المبتور لمستقبلة EGF و *ras* يرمز بروتيناً من النمط (G) و *src* يرمز كيناز تيروزين البروتين و *C-MYC* يرمز بروتيناً رابطاً للدنا (DNA).

يحرض ناتج *sis* دورة PI، ويحرض ناتج *erb-B* الانقسام الفتيلي، بينما يحرض ناتج *ras* مُحَلِّقَة الأدينيليل، ويفسفت ناتج *src* بروتينات هدفية مختلفة على ثمالات التيروزين، ويغير *C-MYC* التعبير الجيني. ويستطيع cAMP التأثير في عدد من العمليات الخلوية بتفعيله كينازات البروتين المعتمدة عليه، وتؤثر كيناز البروتين C على فعالية عدد من البروتينات الهدفية. ويكون لأيونات الكالسيوم (Ca^{2+}) تأثيرات عديدة، وكذلك البروستاجلاندينات واللوكوترينات الناتجة عن الأراكيدونات.

في تنظيم تمايز الخلايا الجذعية، لكي تشكل أنماطاً متعددة من الخلايا الدموية الناضجة. ويوجد أيضاً عوامل مثبطة للنمو كعامل النمو المحول [TGFβ] الذي يبدي تأثيرات مثبطة لنمو بعض الخلايا. وهكذا، فإن التعرض المزمن لكميات متزايدة من عامل نمو ما أو كميات متناقصة من عامل مثبط للنمو سيؤدي إلى تغير في توازن النمو الخلوي.

تعمل عوامل النمو بالأسلوب الصماوي (Endocrine) أو نظير الصماوي (Paracrine) أو الذاتي (Autocrine) (انظر أيضاً الفصل 44):

قد تكون تأثيرات عوامل النمو صماوية (كالهرمونات) يجري إنشاؤها في مكان ما من الجسم وتنتقل عبر الدوران إلى الخلايا الهدفية؛ أو تكون نظيرة صماوية تخلق في خلايا معينة وتفرز لتؤثر على الخلايا المجاورة مباشرة دون أن تتأثر الخلايا المصنعة بحد ذاتها (بسبب افتقارها للمستقبلات). وتؤثر بعض عوامل النمو على الخلايا التي تخلقها، الآلية التي تدعى بالذاتية (Autocrine) فقد يفرز عامل النمو ويرتبط بالخلية مباشرة إذا كانت الخلية تحوي مستقبلات له. ومن ناحية أخرى، وحتى إذا لم يجر إفراز كمية معينة من العامل، فإن وجوده ضمن الخلية قد يحرض مباشرة حصول عمليات عديدة.

تؤثر عوامل النمو على دورة الخلية والانقسام الفتيلي بطريقة التنبيغ بالإشارة عبر الأغشية:

لم يعرف سوى القليل نسبياً حول كيفية عمل عوامل النمو على المستوى الجزيئي. وكما في الهرمونات عديدة الببتيد (الفصل 44)، عليها أن تنقل رسالة عبر الأغشية البلازمية إلى داخل الخلية (التنبيغ بالإشارة عبر الغشاء Transmembrane signal transduction).وفي حالة عوامل النمو، ستؤثر الرسالة على عملية أو أكثر من العمليات المساهمة في دورة الخلية والانقسام الفتيلي. ويكون لمعظم عوامل النمو مستقبلات بروتينية شديدة الألفة تجاهها متوضعة على الغشاء البلازمي للخلايا

الوظيفة	المصدر	عامل النمو
تحرض نمو عدد من الخلايا البشروية والظهارية	الغدد اللعابية الفأرية	عامل النمو البشروي (EGF)
تنظم تطور الخلايا الباكرة المكونة للحمر.	الكلية، البول	الإريثروبويتين
تُعزز تكاثر العديد من الخلايا	العديد من الخلايا المتنوعة	عوامل نمو الأرومات الليفية (FGFs) [1]
يحرض إنتاج IL – 2 من قبل الخلايا التائية T.	الأوساط المتكيفة (Conditioned)	الإنترلوكين – 1 (IL-1)[2]
يحرض نمو الخلايا التائية T.	الأوساط المتكيفة	الإنترلوكين – 2 (IL-2)
تأثير منبه على الأعصاب الودية وبعض الأعصاب الحسية	الغدة اللعابية الفأرية	عامل النمو العصبي (NGF)
يحرض نمو الخلايا المتوسطية (Mesenchymal) والدبقية (Glial)	الصفيحات	عامل النمو المشتق من الصفيحات (PDGF)
مشابه للعامل EGF	الوسط المتكيف للخلايا المتحولة أو الورمية	عامل النمو المحول – ألفا (TGFa)
يبدي تأثيراً محرضاً على خلايا معينة ومثبطا علي الأخرى	الكلية، الصفيحات	عامل النمو المحول – بيتا (TGFβ)

الجدول 5-62 : بعض عوامل النمو العديدة الببتيد

1– يوجد على الأقل تسعة أعضاء في هذه الفصيلة.

2 – تم عزل ما لا يقل عن ثلاثة عشر إنترلوكيناً تشكل مع عاملَي نخر الورم (TNF) ألفا وبيتا والإنترفيرونات ألفا وبيتا وجاما وإيبسلون فصيلة خاصة من عوامل النمو تُدعى السيتوكينات.

الهدفية. وقد تم تنسيل جينات مستقبلات العديد من عوامل النمو، وبناء نماذج لبنية هذه المستقبلات. ويكون لها بشكل عام شدف قصيرة عابرة للغشاء وحقول خارجية وهيولية بأطوال مختلفة. وترتبط اللجائن بالحقول الخارجية. وقد وجد أن للعديد من المستقبلات (مثل مستقبلات EGF والإنسولين و PDGF) فاعليات لكيناز تيروزين البروتين، وهذا ما يذكرنا بناتج الجين *src -v* (انظر أعلاه). ويؤدي هذا النشاط الكينازي المتوضّع على الحقول الهيولية إلى فسفتة المستقبل نفسه وكذلك بروتينات هدفيّة أخرى أيضاً. ويتعرض معقد المستقبل واللجين إلى الالتقام (Endocytosis) ضمن حويصلات مغلفة (Coated vesicles) (انظر مناقشة مستقبلات LDL في الفصل 27). ومازالت العمليات الدقيقة التي تقود إلى تنبيغ الإشارات عبر الأغشية قيد التحري، وهي تختلف بحسب العوامل المختلفة. وسنصف حالة PDGF كمثال على ذلك.

تتحرض الفسفوليباز C بعد تعرض الخلية للعامل PDGF مما يؤدي إلى حلمهة فسفاتيديل الإينوزيتول 4، 5 – ثنائي الفسفات لتشكيل ثلاثي فسفات الإينوزيتول وثنائي أسيل الجليسيرول (انظر *src-v* سابقاً والشكل 44-9). ويؤثر المرسالان الثانويان الناجمان في إطلاق الكالسيوم داخل الخلوي وفي تحريض نشاط كيناز البروتين C على الترتيب، ويتأثر بالتالي العديد من التفاعلات الخلوية. وتؤدي الحلمهة التالية لثنائي ألاسيل الجليسيرول بوساطة الفسفوليباز A_2 إلى تحرير حمض الأراكيدونيك الذي يمكن أن يؤدي إلى إنتاج البروستاجلاندينات واللوكوترينات، والتي تملك العديد من الفعاليات البيولوجية (الفصل 25). وقد يؤدي PDGF إلى تفعيل سريع (من دقائق إلى 1-2 ساعة) لبعض طلائع الجينات الورمية الخلوية (مثل *fos , myc*) ويبدو أن تفعيل الجينات السوية أو طلائع الجينات الورمية يساهم في تأثير معظم عوامل النمو.

تتأثر عوامل النمو والجينات الورمية بطرق عديدة:

تكون نواتج العديد من الجينات الورمية إما عوامل نمو أو أجزاء من مستقبلات عوامل النمو (الجدول 62-4).

تحتوي السلسلة B من العامل PDGF على 109 أحماض أمينية. ويبدو أن هذه السلسلة فعالة حيوياً كمَتثنوي متجانس من دون تدخل السلسلة A. وقد أظهر اكتشاف أن *v-sis* يرمز 100 حمض أميني من أصل 109 أحماض أمينية للسلسلة B من PDGF وجود علاقة مباشرة بين عوامل النمو والجينات الورمية. كما أشار إلى أن التنبيه الذاتي بالعامل PDGF ـ والذي يشكل منبهاً مزمناً للانقسام ـ قد يكون عاملاً هاماً في آلية تحول الخلايا بواسطة *v-sis*. ومن المؤكد أن العديد من خلايا الأورام المزروعة تفرز عوامل نمو في الوسط المحيط، وتؤمن مستقبلات لهذه الجزيئات.

وقد أظهر تحليل تسلسل جين *V-erb*-B بأنه يُرَمّز الشكل المبتور لمستقبل EGF مع خبن في جزء كبير من الحقل الخارجي للمستقبل ولا يتأثر نشاط كيناز تيروزين البروتين. ويكون الشكل الشاذ لمستقبل EGF والذي يرمزه *V-erb*-B فعالا بشكل مستمر عند وجوده في الخلايا وكأنه مستقبل مشغول؛ وكما في حالة التحريض الذاتي بوساطة PDGF، قد ينجم عن ذلك إشارة مزمنة مولدة للانقسام تقود الخلايا باتجاه الحالة المتحولة.

كان يعتقد سابقاً أن عامل النمو المحول بيتا (TGFβ) هو عامل نمو إيجابي لأنه يجعل الأرومة الليفية تسلك سلوكاً وكأنها متحولة. ومن المعروف حالياً أن TGFβ يثبط نمو معظم أنماط الخلايا باستثناء الأرومات الليفية؛ فهو يثبط نمو خلايا الكلية المخلِّقة له في القرود. وقد يُفَعِّل TGFβ الجين *sis* في الأرومات الليفية، مما يفسر تأثيره المحرض للنمو في هذه الخلايا.

وهو يمارس تأثيراته التثبيطية على تقدم الدورة الخلوية بضروب مختلفة من الآليات بما في ذلك فسفتة pRB، (انظر لاحقاً) وإنقاص مستويات جزيئات الرنا (RNA) المرسال للسيكلينات E و A وتثبيط الكينازات المعتمدة على السيكلين E والسيكلين A. ويبدو أن الطفرات في الجين المُرَمِّز لبعض مستقبلات TGFβ تشكل حدثاً باكراً نسبياً في سرطان القولون الوراثي غير السليلي (انظر لاحقاً).

وكما سنرى، هناك دليل آخر على أن بعض الجينات المؤثرة في تكون الورم ترمز نواتج تبطئ نمو الخلية، ولذلك تُسمى بالجينات الكابتة للورم. وهكذا، فإن التحكم بنمو الخلية معقد جداً وتشارك فيه عوامل منظمة إيجابية وسلبية.

يساهم الجين *RB1* الكابت للورم في تكون ورم أرومة الشبكية (Retinoblastoma):

لوحظ وجود جينات أخرى ـ غير الجينات الورمية ـ تلعب دوراً كبيراً في إحداث بعض أنماط السرطان على الأقل. هذه الجينات هي الجينات الكابتة للورم، وقد دعيت بالجينات الورمية المقهورة أو مضادات الجينات الورمية. وتعمل هذه الجينات بشكل مختلف تماماً عن عمل الجينات الورمية (الجدول 62-6)، حيث أن تعطيل هذه الجينات (بعكس التفعيل) يزيل آليات معينة تتحكم بالنمو. والنموذج الهام لفهم آلية عمل هذه الجينات هو ورم أرومة الشبكية؛ وهو ورم خبيث في الأرومات العصبية الشبكية (خلايا طليعية للخلايا الحساسة للضوء في الشبكية).

يكون هذا الورم وراثياً في بعض الحالات، في حين لا يبدو كذلك في حالات أخرى. وفي عام 1971 اقترح كندسون (Knudson) أن ظهور ورم أرومة الشبكية يعتمد على طفرتين. وقد افترض بأنه في الحالات الوراثية من ورم أرومة الشبكية تكون الطفرة الأولى موجودة في سلالة الخلايا المنتشة؛ أما الطفرة الأخرى فتحصل في الأرومات الشبكية؛ في حين تحصل كلتا الطفرتين في الحالات الفرادية (Sporadic) (غير الوراثية) في الأرومات الشبكية. وقد ثبتت صحة هذه الفرضية في الأبحاث اللاحقة؛ فقد جرى عزل وسلسلة الجين الذي يحدث ورم أرومة الشبكية (الجين RB1) كما حددت طبيعة ناتجه البروتيني pRB جزئياً (الجدول 62-7). وقد بينت التحاليل التي استخدمت طرائق الرفلبات (RFLPs) وتلطيخ ساوثرن بأن العينات الشاهدة المأخوذة من أشخاص مصابين بورم أرومة الشبكية الوراثي كانت متغايرة الزيجوت في منطقة الجين *RB1* (مما يعني وجود أليلين، أحدهما سوي والآخر شاذ)، في حين كانت جميع عينات الورم متماثلة الزيجوت في هذه المنطقة. وتعرف هذه الظاهرة بفقد تغاير الزيجوت (Loss of heterozygosity) التي تعكس حقيقة أن الورم يحتوي أليلين طافرين، وتلاحظ هذه الظاهرة عند تحليل الجينات الكابتة للورم. الناتج pRB هو بروتين نووي مفسفت، ويبدو أن لمدى فسفتته أهمية في عمله؛ فخلال G_0 أو G_1 يكون هذا البروتين ناقص الفسفتة في حين تزداد فسفتته في آخر الطور G_1 وفي أول الطور S، ويعود للفسفتة الضعيفة في الطور G_0 - G_1. وتشكل الأشكال ناقصة الفسفتة من pRB معقدات مع عدد من البروتينات

الڤيروسية، مثل المستضد T الكبير للڤيروس SV40، ويكون pRB في هذه المعقدات غير فعال، وتختفي فاعليته كمنظم سلبي لانقسام الخلايا مما يفسر التضاعف المتزايد للخلايا المُحَوَّلة بهذه الڤيروسات.

الجينات الورمية	الجينات الكابتة للورم
طفرة في أليل واحد من الأليلين كافية للفعالية.	طفرة في الأليلين، أو طفرة في أليل واحد يتبعها فقد الزيجوت المتماثل في الثاني
سائدة على النمط البري	فقدان وظيفة البروتين
«اكتساب وظيفة» بروتين يطلق إشارة للانقسام الخلوي	
الطفرات جسدية لا تورث	توجد الطفرة في الخلايا المنتشة (يمكن توريثها) أو في الخلايا الجسدية.
بعض الأفضلية النسيجية	أفضلية نسيجية قوية (مثل تأثير الجين RB1 في الشبكية).

الجدول 62-6 : بعض الفوارق بين الجينات الورمية والجينات الكابتة للورم.

* يتوضع الجين على الكروموسوم q1413.
* لورم أرومة الشبكية طفرتان متماثلتان على الأليلين (فقد تغاير الزيجوت).
* لناتجه الورمي (pRB) كتلة جزيئية قدرها 110 ك. دالتون، ويُعَبَّر عنه في العديد من الخلايا.
* pRB هو بروتين نووي فسفوري تتغير فسفتته خلال دورة الخلية.
* تربط أنواع pRB غير المفسفتة بعض البروتينات الڤيروسية (مثل المستضد الكبير T لڤيروس SV40) مشكلة معقدات تُعَطِّل فعاليتها.
* يمكن أن ينظم pRB التكاثر الخلوي بالارتباط مع معقد انتساخ E2F الذي يكون نشاطه ضرورياً لتقدم الدورة الخلوية؛ ويثبط الارتباط بفعل فسفتة pRB قبل بدء الطور التخليقي S مباشرة.
* تساهم الطفرات في هذا الجين أيضاً في السرطانات العظمية وبعض الأورام البشرية الأخرى.

الجدول 62-7 : بعض خصائص الجين RB1 وناتجه البروتيني.

وفي الحالات التي لا تتدخل فيها الڤيروسات الجينية الورمية، يبدو أن هذا البروتين يرتبط بمجموعة من البروتينات في الطور Sمما يبطئ دورة الخلية.

ومن الأورام الأساسية التي يكون تعطيل البروتين pRB فيها عاملاً هاماً نذكر سرطانات الخلية الصغيرة في الرئة والسرطانة الغدية للبروستاتة والأورام ذات المنشأ الشبكي أو العظمي أو من الأنسجة الضامة.

يعمل الجين *P53* الكابت للورم كحارس للمجين:

هناك جين آخر كابت للورم ذو أهمية بالغة هو الجين *P53* الذي يرمز بروتيناً (يدعى p53) بكتلة جزيئية مقدارها 53 ك. دالتون. ويلخص (الجدول 62-8) بعض المظاهر الرئيسية لهذا الجين. وكما في pRB، فإن ناتجه البروتيني نووي التوضع يتعرض للفسفتة ونزع الفسفات ويرتبط مع بعض البروتينات الڤيروسية.

* يتوضع الجين على الذراع القصير للكروموسوم 17.
* الناتج (p53) هو بروتين فسفوري نووي بوزن جزيئي قدره 53 ك. دالتون وخمسة مناطق بنائية أساسية.
* يربط p53 متواليات نوعية في الدنا مضاعف الطاق.
* يعمل P53 كمنظم انتساخ، وقد يقوم بتنظيم الجينات المشاركة في انقسام الخلية ودورتها.
* يزداد مستوى P53 بعد التعرض لعوامل تؤدي إلى تأذي الدنا؛ وهذا ما يسبب توقف الدورة الخلوية عند مرحلة معينة من G_1 بشكل نوعي ويفسح المجال لتصليح الدنا. كما يحرض الموت الخلوي المبرمج بحيث تموت الخلية المتأذية. ويعمل من خلال هذه الآليات «كحارس للمجين».
* يربط p53 العديد من البروتينات الڤيروسية (مثل المستضد الكبير T للڤيروس SV40)، ليشكل معقدات قليلة المواحيد غير فعالة.
* ليس p53 ضرورياً للتطور الخلوي السوي لكن غيابه (كما في الفأر المخرب الجينات) يزيد بشكل كبير حدوث الأورام ويترافق مع عدم الاستقرار المجيني.

الجدول 62-8: بعض خصائص الجين *P53* وناتجه البروتيني.

ويبدو أن P53 له ثلاث تأثيرات أساسية على الأقل:

1- يعمل كمنشط للانتساخ لينظم جينات معينة مرتبطة بانقسام الخلية.

2 - ويساهم في نقطة تحقق الطور G_1 ليتحكم في الدورة بحسب مدى تخريب الدنا. فإذا حدثت أذية مفرطة في الدنا (DNA) ـ بعد التعرض للأشعة فوق البنفسجية مثلاً ـ يتزايد نشاط p53 مما يؤدي إلى تثبيط انقسام الخلية ويفسح الوقت لتصليح الخلل. ولكن إذا استمر انقسام الخلايا دونما كابت، يتضاعف خلل الدنا (DNA) مؤدياً إلى حدوث طفرات دائمة في المجين. ومن ناحية أخرى، إذا جرى تعطيل p53- كما يحصل في العديد من الأورام (انظر لاحقاً) ـ فإنه قد لا يقوم بوظيفته فيتراكم خلل الدنا (DNA) في الخلية وتغدو الخلية وراثياً أقل ثباتاً. وهكذا، فقد افترض أن p53 يعمل «كحارس للمجين» أو «كرجل شرطة جزيئي».

3 - والوظيفة الثالثة للبروتين p53- والتي لفتت انتباه الباحثين ـ هي مشاركته في ابتداء انتحار الخلية أو موتها المبرمج (Apoptosis) (مصطلح إغريقي يعني «سقوط الأوراق الصفراء»)؛ ففي معظم أنسجة البالغين ينجم الاستتباب عن التوازن بين نمو الخلية وموتها. ويمكن تعريف هذا النمط من الموت الخلوي بأنه موت الخلية المبرمج الذي تضبطه أحداث نوعية منظمة جينياً، ويحصل في حالات فيزيولوجية (كالنمو المضغي، وإعادة تشكيل الأنسجة) ومرضية (كالحرمان الهرموني، وقد يشاهد تموت الخلية في أدواء ألزهايمر وهنتنجتون وباركنسون (انظر الفصل 64). والخلايا المعرضة للموت تنكمش ويتكثف الكروماتين فيها ويتكسر الدنا (DNA) وتظهر فقاعات على أغشيتها. ويعد تفعيل إنزيم النوكلياز الداخلية المعتمدة على أيونات المغنيزيوم والكالسيوم الذي يشطر الدنا (DNA) ضمن الجسيم النووي وفصيلة من إنزيمات البروتياز هي الأحداث المفتاحية الأساسية في حصول الموت الخلوي المبرمج. وقد تم تحديد عدد من الجينات التي تساهم في الموت الخلوي المبرمج. وبعضها من الجينات الورمية مثل *myc* (مُحَرِّض) و *bcl* – 2 (مثبط للموت الخلوي المبرمج). وهناك جين آخر يساهم في الموت الخلوي المبرمج في بعض الخلايا (ذات المنشأ اللمفاوي مثلاً) هو *APT* – 1 (أو *FAS*) الذي يُرَمِّز لما يدعى مستقبل الموت، والذي يرتبط به لجَين يبدو أنه عضو في فصيلة عوامل النخر الورمية

من عوامل النمو. وينبه التآثر بين اللجين والمستقبلة أحداث الموت الخلوي المبرمج في الخلايا المستعدة. وفي الدودة المسودة المسماة *(Caenorhabditis elegens)*، تكون طليعة جين الموت الخلوي المبرمج هي *ced* – 3، ويرمز الجين بروتيازاً افتراضياً للسيستين، وهو يرتبط بالإنزيم الثديي المحول للإنترلوكين 1 – بيتا (ICE). وعندما يكون *ced* – 3 مخبوناً في *C. elegans*، يتوقف الموت الخلوي المبرمج في الخلايا الهدفية. وتلعب إنزيمات الهيدرولاز (النوكليازات الداخلية والكاسباسات (Caspases)) دوراً رئيسياً في موت الخلية المبرمج لأنها تُدَرِّك الجزيئات الحيوية كالدنا (DNA) والبروتينات.

وما زالت كيفية مساهمة P53 في الموت الخلوي المبرمج قيد الاختبار؛ فقد يكون ذا دور منشط للجينات الأساسية التي تتدخل في الموت مما يثبط الجينات الضرورية لبقيا الخلية، أو قد يكون أحد مكونات مجموعة متسلسلة من الحوادث الكيميائية الحيوية التي تؤدي إلى الموت الخلوي المبرمج. وهدف هذه الوظيفة للبروتين *P53* هو تسريع موت الخلايا ذات الخطورة الكامنة، مثل تلك الخلايا المخربة بالتشعيع فوق البنفسجي، والتي يمكن أن تتجه نحو التحول السرطاني؛ ولهذا، فقد دعي P53 باسم «حارس الأنسجة».

ومن ناحية أخرى، يمكن افتراض أنه إذا أمكن توجيه الخلايا السرطانية نحو الموت الخلوي المبرمج (مثلاً: بإدخال الجين *P53* الفعال ضمن هذه الخلايا فقط)، فإن هذا يعتبر فتحاً جديداً في معالجة السرطان.

كثيراً ما تترافق طفرات الجين *p53* مع العديد من الأورام البشرية:

بسبب العديد من الدراسات التي جرت في السنوات القليلة الماضية، أصبحنا نعرف أكثر عن مرافقة طفرات هذا الجين للسرطانات البشرية أكثر من أي جين آخر. وقد ذكرت بعض أهم الموجودات في (الجدول 62-9). وسنكتفي بذكر عدة نقاط:

1 – من الواضح أن هناك مجموعة كبيرة من طفرات الجين *p53* ترافق السرطان عند الإنسان.

2 – تكون ثنائيات النوكليوتيد CpG بقعاً ساخنة لحصول الطفرات التلقائية مما يعكس ميل ثمالات 5 – ميثيل السيتوزين في ثنائيات النوكليوتيد هذه لنزع الأمين التلقائي.

3 – يعد الأفلاتوكسين B_1 مسرطناً كبدياً فعالاً يتعرض له العديد من الأشخاص (في الهند وإفريقيا على سبيل المثال). وبإجراء تجارب التطفير (Mutagenesis) في المختبر، وجد أنه يعمل بشكل أساسي على تحويل G إلى T. ومما يثير الاهتمام أن نجد هذه التبدالات نفسها في سرطانات الكبد الحاصلة لدى مرضى من هذه المناطق يتعرضون فيها بشكل كبير لهذا المُسرطن.

4 – لوحظ شيوع تبدال مماثل في سرطانات الرئة التي تترافق مع التدخين والتعرض للكيميائيات (مثل البنزوبيرين). وتشير المجموعتان الأخيرتان من الموجودات ـ وغيرها من النوع نفسه ـ إلى أن تحديد الأنماط النوعية للطفرات (تبدال أو انتقال في ثنائيات النوكليوتيدات . . . CpG إلخ) في جينات الأورام البشرية قد يفيد في كشف مسبباتها (مثل التعرض للكيميائيات البيئية أو الطفرات التلقائية). وهذا مثال عن استخدام علم الوبائيات الجزيئي في تحديد سبب السرطان والمساهمة في الوقاية منه.

يشير النموذج الجيني لسرطان القولون والمستقيم إلى أن وجود الطفرات في خمسة أو ستة جينات ضروري لظهور المرض:

يعد سرطان القولون والمستقيم سرطاناً شائعاً حيث تحصل نحو 150,000 حالة في الولايات المتحدة سنوياً. وقد أنجز تحليل الأحداث الجزيئية الرئيسية في هذا النمط من السرطان لأنه كان من الممكن أن نحصل من المرضى على عينات من كل من النسيج الطبيعي للقولون والمستقيم والأورام الغدية (أورام سليمة) بحجومها المختلفة وسرطان القولون والمستقيم الأساسي والنقيلي. ويمكن بعد ذلك مقارنة هذه

العينات فيما يخص الأنماط الكروموسومية (H/Karyotypes) والجينات الورمية والجينات الكابتة للورم ومدى مَثْيَلَة الدنا (DNA methylation). ولقد أوضحت الدراسات التي أجريت على الحالتين الوراثيتين اللتين تؤهبان لسرطان القولون والمستقيم آلياته الأساسية إلى حد بعيد أيضاً.

* لطفرات في الجين *p53* هي أكثر التغيرات الجينية شيوعاً في السرطانات البشرية، وتكثر في سرطانات القولون والثدي والرئة.
* تم كشف 100 طفرة مختلفة على الأقل في هذا الجين.
* توجد الطفرات عادة في روامز مصونة.
* يختلف طيف التطفير بين مختلف السرطانات.
* تكثر الانتقالات الحاصلة في ثنائيات النوكليوتيد CpG (بقعة حارة) في أورام القولون والثدي والأنسجة اللمفاوية.
* تكثر التبدالات في سرطان الرئة وسرطان الكبد، وتوجد بشكل أساسي على موضع نوعي واحد (تغير G إلى T عند الرامزة 249) في بعض السرطانات الكبدية الخلوية، ويحصل في المناطق الأكثر تعرضاً للأفلاتوكسين B1 وڤيروس التهاب الكبد B.

الجدول 62-9: ملخص للخصائص الأساسية لطفرات P53 الموجودة في الأورام البشرية [1].

1 – لم تبد الأنسجة الشاهدة غير المصابة بالسرطان طفرات في الجين P53، وقد وجدت الطفرات في الخلايا الجسدية؛ ووجدت الطفرات في الجين P53 في الخلايا الجنسية للأشخاص المصابين بمتلازمة سرطان لي ـ فروميني، وهي متلازمة يُوَرَّثُ فيها المعدل المرتفع لحدوث بعض السرطانات. ويستبدل البورين ببورين آخر أو البَيريميدين ببيريميدين آخر في حالة الانتقال أما في حالة التبدال فيستبدل البورين ببَيريميدين أو العكس بالعكس.

الحالة الأولى هي داء السليلات الغدية الورمية العائلية (Familial adenomatous polyposis)، وهو اضطراب يورث بشكل جسدي سائد. ويبدي المصابون به بدءاً من سني المراهقة مئات إلى آلاف الأورام الغدية في القولون والمستقيم يبدي بعضها تحولاً خبيثاً. وقد أوحت حالات الخَبْن الملاحظة بالدراسة الوراثية الخلوية أن الجين المسؤول يتوضع على الكروموسوم 5q. بعد ذلك تم عزل الجين الكابت للورم المدعو *APC* وتبين أن طفرات هذا الجين في السلالة المنتشة هي السبب في داء السليلات الغدي الورمي العائلي. وانطلاقاً من هذه الملاحظات المختلفة وغيرها، اقترح فيرون (Fearon) وفوجلشتاين (Vogelstein) في عام 1990 نموذجاً جينياً لتفسير ظهور سرطان القولون والمستقيم [طوره فيما بعد كنزلر (Kinzler) وفوجلشناين (الشكل 8-62)] وفيما يلي أهم خصائص هذا النموذج:

(1) يتم الأمر على عدة مراحل، وهذا يتوافق مع المعلومات الكثيرة التي تشير إلى أن السرطان هو عملية متعددة المراحل.

(2) تبتدئ طفرات *APC* العملية، وينجم تطور الورم عن طفرات في الجينات الأخرى الموجودة في الشكل.

(3) تساهم فيه أيضاً طفرات في الجين الورمي *K-RAS*.

(4) وتتهم أيضاً طفرات في جينات أخرى كابتة للورم (الجين *P53* وجينات أخرى تتوضع على الكروموسوم 18q21).

(5) تساهم طفرات تؤثر على عملية تصليح سوء الازدواج في تسريع العملية الإجمالية (انظر مناقشة سرطان القولون الوراثي غير السليلي لاحقاً).

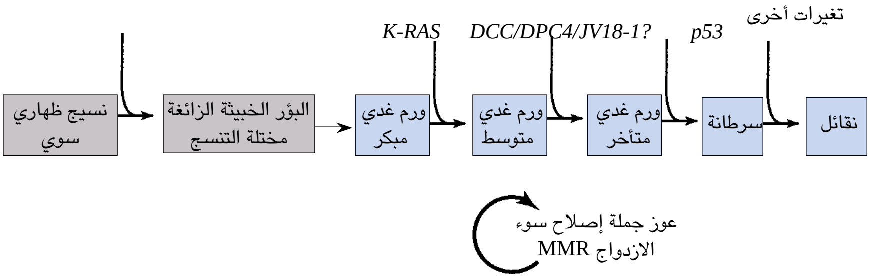
(6) وهكذا تتضمن العملية ست إلى سبع جينات على الأقل كبداية.

(7) ليس للترتيب الدقيق لهذه التغيرات أهمية، بل تراكمها هو المهم.

(8) يتطلب الانتشار والنقائل حدوث طفرات أخرى.

(9) في الخباثات الأخرى، يختلف طيف الجينات الورمية والجينات الكابتة المُتَضَمَّنة عن هذا النموذج المفترض.

يستثير هذا النموذج المزيد من البحث، ولكن هناك الكثير الذي يجب تعلمه عن سبل التسرطن (انظر أدناه) في الخلايا القولونية وغيرها. وقد جرى الحصول على معلومات مشابهة عند دراسة الأورام الرئيسية الأخرى. ويؤمل أن تفيد هذه المعلومات في الوقاية من السرطان وتشخيصه ومعالجته. وفيما يخص هذه الأخيرة، وعلى سبيل المثال، يمكن تصميم مواد قادرة على تعطيل الجينات الورمية (عديدات الديوكسي نوكليوتيد اللامعينة)، أو استبدال الجينات الطافرة الكابتة للأورام ـ بوساطة المعالجة الجينية ـ بالنمط السليم أو البري (Wild) منها (راجع الفصل 63).

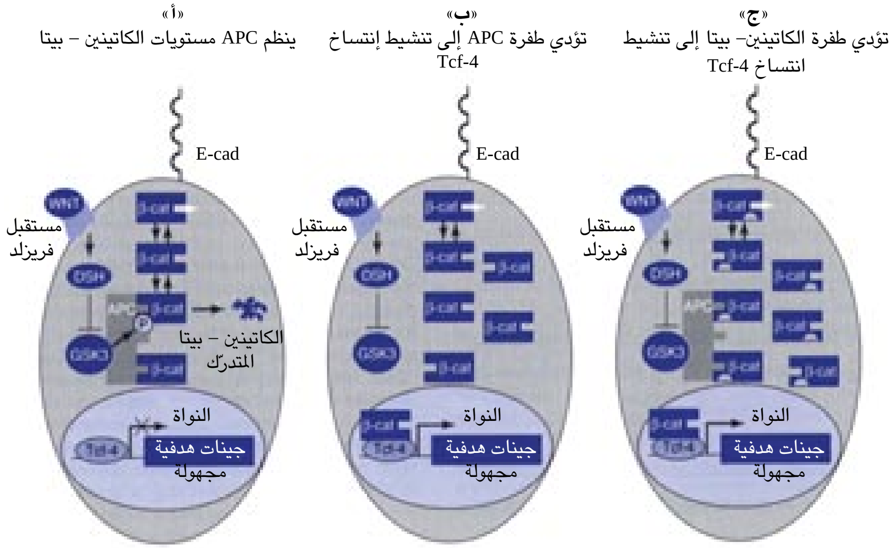


الشكل 62-8 : ترسيم للتغيرات الجينية في التسرطن القولوني المستقيمي. تسهل طفرات في الجين *APC* العملية المكونة للورم، وينجم ترقي الورم عن طفرات في جينات أخرى مشار إليها. يرث المصابون بداء السلسيلات الغدي العائلي طفرات في الجين *APC* ويظهرون عدداً كبيراً من البؤر الخبيثة الزائغة مختلة التنسج (ACF)، ويترقى بعضها باكتساب طفرات أخرى مشار إليها في الشكل. وتسير الأورام المأخوذة من مصابين بسرطان القولون الوراثي غير السليلي عبر سلسلة مماثلة وليست مطابقة من الطفرات؛ وتتسرع هذه العملية بالطفرات الموجودة في جملة إصلاح سوء الازدواج (عوز MMR في الشكل). ويعد *K-RAS* جيناً ورمياً يتطلب حدثاً وراثياً واحداً فقط لتنشيطه. وأما الجينات النوعية الأخرى المشار إليها فهي جينات كابتة للأورام تتطلب حدثين وراثيين (واحد في كل أليل) لتعطيلها. ويمكن أن يحتوي الكروموسوم 18q21 على عدة جينات مختلفة كابتة للورم تساهم في سرطان القولون والمستقيم، وقد اقترحت الجينات *DCC* و *DPC4* و *JV18-1* كجينات مرشحة لذلك. وقد وصفت ضروب مختلفة من التغيرات الجينية الأخرى في جزء صغير من سرطانات القولون والمستقيم المتقدمة؛ وقد تكون هذه مسؤولة عن تنوع الخصائص البيولوجية والسريرية الملاحظة بين مختلف الحالات.

تؤدي الطفرات في الجينات المرمزة للبروتين APC والكاتينين ـ بيتا إلى تنشيط الجين *C-MYC*:

كما لاحظنا آنفاً، تؤدي طفرات السلالة المنتشة في الجين *APC* إلى داء السليلات الورمي الغدي العائلي؛ كما توجد الطفرات في هذا الجين في العديد من السليلات الغدية الورمية الفرادية وسرطانات القولون والمستقيم. ولكن كيف تؤدي الطفرة في هذا الجين إلى زيادة التكاثر الخلوي في السرطان؟ لقد وجد أن البروتين *APC* يتآثر مع بعض البروتينات الأخرى، بما في ذلك الكاتينين ـ بيتا. وهذا الأخير هو بروتين هيولي يتآثر أيضاً مع الحقل الهيولي للكادهيرين E (E-cadherin)، وهو بروتين خلوي سطحي من مكونات مواصل الالتصاق المساهمة في التآثرات الخلوية ـ الخلوية. ويعزز تآثر البروتين APC مع الكاتينين ـ بيتا تَدَرُّك الأخير (انظر الشكل 9-62)؛ وهذا ما يتطلب تآثر البروتين APC مع الكيناز الثالثة لمُخَلِّقة الجليكوجين (GSK3) التي تفسفت البروتين الأول. وتعد GSK3 من مكونات سبيل الإشعار *WNT* (WNT signaling pathway)الذي أول ما لوحظ في ذبابة الفاكهة ثم في حقيقيات النوى الراقية بما في ذلك الإنسان. وعندما يكون هذا السبيل ناشطاً، يتثبط GSK3 ولا يتفسفت الكاتينين ـ بيتا به ولا يتدرك. ومن جهة أخرى، عندما يكون البروتين APC معطلاً (بطفرات في الجين APC في داء السليلات الغدي الورمي العائلي أو السرطانات الفرادية)، يتراكم الكاتينين ـ بيتا ويتعقد مع عامل الانتساخ Tcf-4 مما يقود إلى تنشيط بعض جينات الخلايا القولونية. وإذا كان الكاتينين ـ بيتا هو نفسه طافراً (كما في بعض سرطانات القولون والمستقيم)، يتوقف تأثره بالبروتين APC و GSK3، ويتراكم من جديد ويتعقد مع Tcf-4. وقد تبين مؤخراً أن أحد الجينات التي تتنشط هو الجين *C-MYC*. وكما لاحظنا في بداية هذا الفصل، فإن ناتج هذا الجين هو بروتين رابط للدنا (DNA) ولم نفهم حتى الآن كيف يؤدي هذا البروتين إلى التكاثر الخلوي لكن يبدو أن تنشيط هذا الجين خطوة هامة في تحول الخلايا الظهارية القولونية. وإحدى الوظائف الأخرى للكاتينين ـ بيتا هي تآثره مع الكادهيرين – E ومساهمته في تنظيمه. وعندما يضطرب التآثر بين هذين البروتينين (بفعل الطفرات المؤثرة في بنية الكاتينين ـ بيتا مثلاً)، يمكن أن يؤثر ذلك في دور الكادهيرين – E في التآثرات الخلوية ـ الخلوية، وربما يساهم في التغيرات الكيميائية الحيوية التي تؤدي إلى حدوث النقائل (انظر لاحقاً).

يمثل ما سبق أحد الأمثلة الكثيرة التي كان فيها للملاحظات الأساسية حول بعض الأنواع، مثل ذبابة الفاكهة، الدور الهام في إيضاح العمليات البيولوجية المعقدة في حقيقيات النوى الراقية، بما فيها الإنسان.



الشكل 9-62 : دور الكاتينين ـ بيتا ومكونات سبيل الإشعار WNT في تسرطن القولون والمستقيم. ينظم البروتين APC مستويات الكاتينين ـ بيتا (β-cat) في الخلايا السوية، وتقوم الطفرات المؤثرة في APC أو الكاتينين ـ بيتا في الخلايا السرطانية بإزالة تنظيم النمو الخلوي بواسطة تنشيط انتساخ عامل الخلايا التائية 4 (Tcf-4) الموجود في خلايا القولون والمستقيم.
والكاتينين ـ بيتا بروتين خلوي غزير، ويرتبط الكثير منه بالحقل الهيولي للكادهيرين E–(E-cad) وهو من بروتينات الالتصاق الخلوي ـ الخلوي. «أ»: في الخلايا السوية، تعزز الكيناز الثالثة لمُخَلِّقة الجليكوجين (GSK3 و APC) تدرك الكاتينين – بيتا الحر، ربما بعد فسفتته. ويتثبط نشاط GSK3 وتدرك الكاتينين – بيتا عند تنشيط سبيل وينجلس (WNT)، وذلك نتيجة فعل مستقبل فريزلد وبروتين ديشفيليد الإشعاري «ب» (DSH): تؤدي الطفرة المؤثرة في APC في خلايا سرطان القولون والمستقيم والسرطانات الأخرى إلى تراكم الكاتينين – بيتا، فيرتبط بالعامل Tcf-4 ويحدث تنشيط انتساخي للجينات الهدفية لهذا العامل، وقد بينت أبحاث حديثة أن الجين C-MYC من بينها فينبه ناتجه الجيني تكاثر الخلايا.
«ج»: تثبط الطفرات النقطية والأخبان الصغيرة في الكاتينين ـ بيتا ضمن الخلايا السرطانية فسفتة الكاتينين ـ بيتا وتدركه بواسطة GSK3 و APC مما يقود إلى تنشيط الجينات الهدفية للعامل Tcf-4.

تساهم جينات تصليح سوء الازدواج في ظهور سرطان القولون الوراثي غير السليلي:

إن جملتي تصليح الدنا (DNA) الأساسيتين في الإنسان هما جملة تصليح سوء الازدواج (Mismatch) وجملة باستئصال ـ التصليح النوكليوتيد. وقد نالت كل منهما الكثير من الاهتمام لأن الأولى تتدخل في ظهور سرطان القولون غير السليلي الوراثي (HNPCC)، وتتدخل الثانية في جفاف الجلد المصطبغ (Xeroderma pigmentosum) انظر الحالة 1 في الفصل 65).

تصحح جملة تصليح سوء الازدواج الأخطاء التي يمكن أن تحصل عند تنسخ الدنا (DNA) كغرز نوكليوتيد خاطئ. وهي جملة بسيطة نسبياً تضم ستة بروتينات تقريباً. وكما في معظم جمل التصليح (انظر الفصل 38)، تتعرف هذه البروتينات مجتمعة على الموضع الشاذ وتقطعه وتستبدله بالتسلسل الصحيح؛ ففي جراثيم الإشريكية القولونية، تتدخل نواتج جينات ثلاثة (*MutH , MutL , MutS*) في المراحل الأولية لتصليح سوء الازدواج. وقد أشير إلى المكونات الرئيسية لهذه الجملة في (الشكل 62-10). وبالمقابل، تقوم جملة التصليح باستئصال النوكليوتيد (Nucleotide excision system) بنزع مساحات أكبر من الدنا (DNA) المتخرب بالمواد الكيميائية أو التشعيع. وهي جملة أكثر تعقيداً من الجملة السابقة وتشمل على الأقل 12 ناتجاً جينياً (الفصل 65).

يعد سرطان القولون الوراثي غير السليلي (HNPCC) متلازمة شائعة نسبياً تتصف بالبدء المبكر لسرطان القولون وبأورام في بعض الأعضاء الأخرى. وقد لوحظ بأن الخلايا من هذا النمط من السرطان تبدي عدم ثباتية ميكروساتلية. والميكروساتلية هي متواليات دنا (DNA) قصيرة (قاعدتين أو 3 أو 4 قواعد) تتكرر مرات عديدة. وبالمقارنة مع دنا (DNA) الأنسجة السوية، تختلف المتواليات الميكروساتلية للخلايا السرطانية المأخوذة من مرضى HNPCC في طولها مما يشير إلى أن الأورام تكون إما قد خسرت أو زادت فيها متواليات الدنا (DNA) وقد يحصل ذلك إذا حصل انزلاق لطاقي (لخيطي) الدنا (DNA) أحدهما بالنسبة للآخر خلال التَّنَسُّخ. ويكون الطاق الجديد ـ حسب اتجاه الانزلاق ـ إما أقصر أو أطول

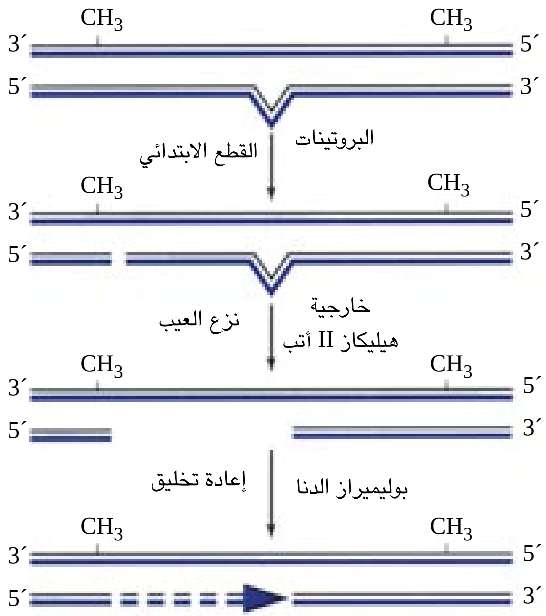
من الطاق الأصلي. وهكذا، فإن الدنا مضاعف الطاق الجديد سيحوي عروة صغيرة أو دنا (DNA) غير مزدوج، والتي يتم تصليحها عادة في الأنسجة السوية بجملة تصليح سوء الازدواج. وتشير الشذوذات الحاصلة إلى أن جملة تصليح سوء الازدواج لا تعمل بشكل صحيح في هذه الأورام، وهذا يفترض أنها قد تغيرت. وقد وجد بعد ذلك أن HNPCC مرتبط بجين موجود على الكروموسوم 2 عُزِلَ فيما بعد وتبين أنه يماثل *MutS*. ولذلك، دعي بالجين *hMSH2*. وقد تم عزل ستة جينات بشرية أخرى تساهم في آلية تصليح سوء الازدواج ومنها الجينات *hPMS1* و *hPMS2* و *hMLH1*. ولوحظ أن لجميعها جينات مماثلة في الإشريكية القولونية تتدخل في تصليح سوء الازدواج. ويُعتقد أن الطفرات في الجينات *hPMS2* و *hMLH1* و *hMSH2* هي السبب في معظم حالات HNPCC. وتعجز خلايا الأورام ذات عدم الثباتية الميكروساتلية عن تصليح سوء الازدواج مما يشير إلى وجود عيوب في البروتينات التي تقوم بهذه العملية.

وقد ثبت وجود ارتباط هام بين عدم الثباتية الميكروساتلية ونقص الاستجابة لعامل نمو معين. ففي الحالة السوية، يكون لـ TGFβ تأثير تثبيطي في نمو الخلايا الظهارية؛ ويتواسط ذلك مستقبلات TGFβ التي هي جزيئات غير متجانسة تتألف من مزيج من جزيئات النمط I والنمط II للمستقبلة (R). أما في سلالات الخلايا المشتقة من سرطانات القولون البشرية، والتي تحوي درجات عالية من عدم الثباتية الميكروساتلية، فقد لوحظ غياب أو تناقص نسخ الرنا المرسال mRNA للبروتين RII. ومما يثبت ذلك، أن هذه السلالات الخلوية نفسها أبدت قليلاً من الارتباط مع TGFβ الموسوم شعاعياً، أو لم تبد ارتباطاً مطلقاً مما يوحي بوجود مستقبلات معيبة. وقد جرى الكشف عن عدد من أنماط الطفرات في الجين المُرَمِّز للمستقبلة RII. هكذا، وفي مثل هذه الحالة، يبدو أن التصليح المعيب (الذي يتظاهر بعدم الثباتية الميكروساتلية) مرتبط مباشرة مع حصول طفرات في الجين المُرَمِّز لمستقبلة عامل النمو، والذي يسمح تعطيله بالإفلات من السيطرة السوية على النمو (الشكل 62-11).

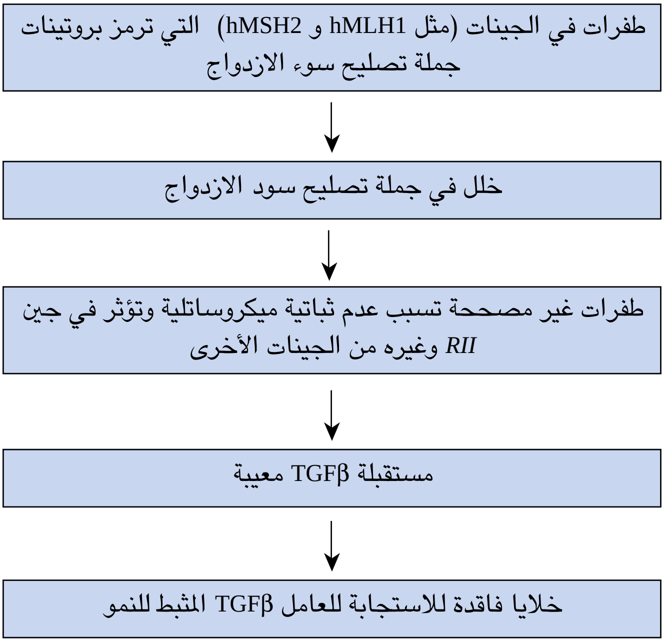
يبدو أن خلل تصليح سوء الازدواج هو الحادثة الحرجة في ظهور بعض أنماط الأورام على الأقل. وقد لوحظ هذا الخلل أيضاً في بعض سرطانات القولون

الفرادية. وسيكون من الضروري تحديد مدى انتشار هذا الخلل في العديد من السرطانات.

وقد يؤدي عدم قابلية تصليح الخلل إلى تفعيل أو تعطيل جينات متعددة في الأورام، ويسمح لها بأن تتباعد بسرعة عن الجينات الأصلية السوية. وقد يساهم ذلك في ظاهرة ترقي الورم (انظر لاحقاً). وتتيح معرفة هذه الجينات أيضاً إجراء الاختبارات كتقصي الجينات *hMSH2* و *hMLH1* و *hPMS2* الشاذة في العائلات ذات الخطورة العالية.



الشكل 10-62 : تمثيل مبسط لتصليح سوء الازدواج في الإشريكية القولونية . يمكن إصلاح سوء الازدواج (المشار إليه بالثنية) من الجانب 5´ كما يظهر في الشكل، أو من الجانب 3´ (غير ظاهر في الشكل). ويحتاج الأمر لوجود ليجاز الدنا (DNA) لإغلاق الثغرات التي يخلفها بوليميراز الدنا III. وترتبط مجموعات الميثيل (CH_3) في الطاق العلوي إلى الأدينين ضمن المتواليات GATC، وغيابها المؤقت في الطاق المُخَلَّق حديثاً يجعل جملة التصليح تتوجه نحوه. وما زالت التفاصيل حول عمل هذه الجملة في الخلايا البشرية مجال بحث.



الشكل 62-11 : مخطط تمثيلي لتسلسل الأحداث التي يمكن أن تؤدي إلى فقدان السيطرة على نمو الخلايا في سرطان القولون الوراثي غير السليلي (HNPCC).

تم عزل عدة جينات تزيد من الاستعداد للسرطان:

نعرف أن هناك أنماطاً معينة من السرطان (مثل سرطان الثدي) يزداد معدلها في بعض العائلات. وقد حصل تطور واضح في عزل الجينات التي تزيد من الاستعداد للإصابة بالسرطان. ويضم (الجدول 62-10) عدداً من هذه الجينات (ومن بينها *RB1* و *p53*) والحالات التي تترافق معها.

التعبير السريري	الكروموسوم	الجين	
يتميز بظهور العديد من السلائل الورمية الغدية المبكرة التي تعد طلائع لسرطانة القولون والمستقيم	5q21	*APC*	الورم الغدي السليلي في القولون (MIM 175100)
انظر النص	17q12	*BRCA1*	ورم الثدي 1، بدء باكر (MIM113705)
انظر النص	13.q.12.3	*BRCA2*	ورم الثدي 2، بدء باكر (MIM 600185)
متلازمة نادرة تضم سرطانات في مواضع مختلفة، وتظهر بعمر مبكر، وغالباً ما تبدي أوراماً بدئية متعددة	17p13	*P53*	متلازمة لي – فروميني (MIM 151623)
حالة تختلف من بقع بنية فاتحة إلى ظهور آلاف من الأورام الليفية العصبية	17q11	*NF1*	النمط 1 من الوُرام الليفي العصبي. (MIM 101000)
الصفة المميزة هي ظهور أورام عصبية سمعية ثنائية الجانب	22q12	*NF2*	النمط 2 من الوُرام الليفي العصبي (MIM 194070)
انظر النص	13q14	*RB1*	ورم أرومة الشبكية (MIM 189200)
نمط نوعي لورم الكلية، يظهر في الطفولة	11p13	*WT1*	ورم ڤيلمز (MIM 197070)

الجدول 10-62 : بعض الجينات المنسلة التي تزيد من قابلية التسرطن[1] .

1 – كافة الحالات المُدرجة في الجدول وراثية. وقد تم عزل عدد آخر من الجينات الأخرى المسببة للسرطان العائلي (مثل الورم الغدي الصماوي العديد من النمط 2A (MIM 164761) ومتلازمة فون هيبل لندو (MIM 193300)) ولم يذكر سرطان القولون الوراثي غير السليلي (HNPCC) (MIM 600258) في هذا الجدول بسبب مساهمة عدة جينات مختلفة لتصليح سوء الازدواج فيه (انظر النص).

والنصـر الأحـدث كـان عـزل الجين *BRCA1* الذي يزيد الاسـتـعـداد للإصـابة بسرطان الثدي والمبيض المبكرين. وتساهم العوامل الوراثية في نحو 5 ٪ من كامل حالات سرطان الثدي، ولكنها تساهم في نحو 30 ٪ من الحالات المشخصة قبل سن 30 عاماً. ويُرَمِّز *BRCA1* بروتيناً مؤلفاً من 1863 حمضاً أمينياً يحوي نموذج إصبع الزنك في منطقة نهايته الأمينية، ولم تحدد وظيفته بعد ولكنه قد يكون عامل انتساخ. وقد وجدت عدة أنماط مختلفة من طفرات هذا الجين في السلالة الإنتاشية تؤهب لحدوث السـرطان. وأما الجين الثـاني الذي أمكن عـزله فـهـو الجين الذي يتـرافق باستعداد متزايد للإصابة بسرطان الثدي (وليس لسرطان المبيض) وهو *BRCA2*.

إن التعرف على هذه الجينات ودراستها بشكل أكبر (مثلاً لتحديد إن كانت تعمل كجينات كابتة للورم أو بآليات أخرى) يسهل التشخيص المبكر لأنماط مختلفة من السرطان العائلي، ويقدم فهماً أكبر لآليات ظهور السرطان في الأنسجة المختلفة. وتثـير الدراسـات في هذا الميدان عدداً من القضـايا الطبيـة والأخـلاقيـة (النصح بالجراحة الوقائية أو سرية نتائج التحري...إلخ).

تميل خباثة الخلايا الورمية إلى التفاقم:

بمجرد تحول الخلية إلى خلية ورمية، لا يبقى تركيبها وسلوك ذريتها ثابتاً وإنما تتزايد خباثتها ويتظاهر ذلك بتزايد الأنماط الصبغية الشاذة ومعدلات النمو والميل إلى الانتشار والانتقال. ويبدو أن ظاهرة التفاقم هذه تعكس حالة عدم ثباتية مجين الخـلايا الورمـيـة. ويبـدو أن طفـرات جـينات تصليح الدنا (DNA) تتـدخل في هذه الظاهرة محدثة نمطاً ظاهرياً (Phenotype) طافراً؛ وقد يساهم في ذلك أيضاً تفعيل جينات ورمية إضافية. ويكون للخلايا ذات درجات النمو الأسرع أفضلية انتقائية.

ومن الضروري تمييز الخصائص الكيميائية الحيوية لهذه الخلايا بمجرد تحولها عن تلك الخـلايا الورمية سريعة النمو وشديدة الخباثة؛ فقد تبدي الخـلايا الأولى بعض الفوارق عن الخلايا السوية بعيداً عن التغيرات الرئيسية المؤدية إلى السرطان (مثلاً تفعيل واحد أو أكثر من الجينات الورمية) والمرافقة عادة للتحول (الجدول 62-3). وقد يكون لتحليل هذه الخـلايا دور في كشف التغيـرات الكيميـائيـة الحيوية

الرئيسية التي تؤدي عادة إلى التحول. وقد تكون الخصائص الكيميائية الحيوية للخلايا شديدة الخباثة مختلفة كثيراً عن حالة الخلايا السوية. ولوحظ حصول العديد من التغيرات في الصيغة الإنزيمية وفي بعض المعالم الكيميائية الحيوية الأخرى (الجدول 62-11) ينجم بعضها كنتيجة ثانوية لمعدل النمو السريع وبعضها الآخر كنتيجة لعدم الثباتية الصبغية. وتميل هذه الخلايا سريعة النمو إلى تضخيم عمليات الابتناء المشاركة في النمو (تخليق الدنا (DNA) والرنا (RNA)) وتتراجع فيها وظائف التقويض (كتقويض البَيريميدين) وتتخلى عن الوظائف المتمايزة التي كانت لأسلافها السوية. وبتعبير آخر، يكون التركيز بشكل كلي على النمو فقط. وتبدي هذه الخلايا أيضاً تغيرات كيميائية حيوية تدل على تنظيم جيني متغير، ومن بينها تخليق بعض البروتينات الجنينية (يمكن استخدام بعضها كواسمات سرطانية، انظر لاحقاً) وبعض عوامل النمو والهرمونات غير الملائمة. ويستبعد أن يفيد تحليل مثل هذه الخلايا في كشف الحوادث الرئيسية البدئية المسؤولة عن التحول بسبب غزارة التغيرات الثانوية الناجمة عن تفاقم الورم والتي تعمل على حجب هذه الحوادث. ومع ذلك، فإن معرفة الخصائص الكيميائية لهذه الخلايا يفيد إلى حد كبير في اختيار المعالجة الكيميائية، لأنها هي بالذات النمط من الخلايا التي يستدعى اختصاصي الأورام لعلاجها والتعامل معها.

تعمل الأدوية المستعملة في المعالجة الكيميائية للسرطان على العديد من المواقع الكيميائية الحيوية:

تمثل الجراحة والمعالجة الشعاعية والعوامل العلاجية الكيميائية الأساليب الأكثر استعمالاً في معالجة مرضى السرطان رغم بدء اكتساب العلاجات البيولوجية المتنوعة أهمية متزايدة. ويعد تطوير الأدوية المضادة للسرطان ـ كما في غيرها من المجالات الطبية ـ تدريباً في مجال الكيمياء الحيوية التطبيقية. وتتمثل المشكلة الأساسية في توفير أدوية (من منشأ نباتي أو صنعي) تقتل الخلايا السرطانية بفعالية عالية وتكون غير سامة بشكل كبير للخلايا السوية. ويدرج (الجدول 63-12) سبعة أصناف رئيسية من المركبات التي استعملت بشكل واسع في معالجة السرطان. وبما أن انقسام الخلايا غير المحدد مظهر تتميز به العديد من الأورام

الخبيثة، فإن العديد من هذه العوامل تستعمل لكونها تثبط تخليق الدنا (DNA)؛ ولهذا السبب فإنها يمكن أن تخرب أيضاً الأنسجة السوية التي تنقسم خلاياها باستمرار (مثل الأمعاء ونقي العظم).

* زيادة فعالية مختزلة الريبونوكليوتيد.
* زيادة تخليق الرنا (RNA) والدنا (DNA).
* تناقص تقويض البَيريميدينات.
* معدلات زائدة من تحلل السكر الهوائي واللاهوائي.
* تغيرات في أنماط النظائر الإنزيمية (نحو الطراز الجنيني غالباً).
* إنشاء بروتينات جنينية (مثل المستضد الجنيني السرطاني).
* فقدان الوظائف الكيميائية الحيوية المتمايزة مثل (الإنشاء الضئيل للبروتينات المتخصصة).
* إنشاء غير ملائم لبعض عوامل النمو والهرمونات.

الجدول 11-62 : التغيرات الكيميائية الحيوية التي توجد عادة في خلايا الأورام سريعة النمو.

ويعد الجزء النامي أو نسبة النمو (Growth fraction) (النسبة المئوية من خلايا الورم التي تكون بصورة مستمرة في حالة انقسام) أساساً هاماً في المعالجة الكيميائية للسرطان. والأورام ذات الجزء النامي المرتفع أكثر استجابة للمعالجة الكيميائية من الخلايا التي تكون هاجعة في الطور G_0 من دورة الانقسام. ومن المفيد أن تصنف الأدوية المضادة للسرطان إلى نوعية لدورة انقسام الخلية (CCS) أو غير نوعية لها (CCNS). وتعمل الأولى منها (بما فيها الميثوتركسات (Methotrexate)) والفلورويوراسيل (Fluorouracil) والسيتارابين (Cytarabine) على الخلايا المتكاثرة (Proliferating) في حين لا يرتبط عمل المجموعة الثانية

(كالعوامل المؤلكلة والسيسبلاتين (Cisplatin) بالتكاثر الخلوي. ويمكن للعوامل CCS أن تقسم أكثر إلى عوامل نوعية للطور (كالعوامل التي تعمل على الطور S من دورة الانقسام [كالسيتارابين] أو على الطور G_2 - M [مثل البليومايسين]) وفي جميع معالجات السرطان يكون من الأفضل أن يشخص المرض ويعالج باكراً ما أمكن وإلا فقد يصبح عبء الورم أكبر مما تستطيع المعالجة أن تنجح فيه.

وخلال العلاج، يفضل نزع الخلايا المولدة للنسيلة (Clonogenic) (الخلايا الجذعية الورمية Tumor stem cells) حيث أنها تتصف بنشاط تضاعف غير محدود. وبشكل عام، يمكن تحقيق ذلك بتطبيق المعالجة عالية الجرعة بشكل متقطع أكثر مما يمكن للمعالجة المستمرة منخفضة الجرعة تحقيقه، لأن الأولى تعرض خلايا الورم إلى مستوى أعلى من الدواء المستعمل. وقد أثبتت المعالجة الكيميائية التشاركيّة (بين ثلاثة أو أربعة عوامل) نجاحها في بعض السرطانات لأن الأدوية قد تعمل بشكل متآزر وتتأخر هجمة المقاومة وتكون السمية أقل عادة.

يلعب البروتين السكري- P دوراً هاماً في مقاومة الأدوية المتعددة (MDR) في المعالجة الكيميائية السرطانية:

تكمن المشكلة الرئيسية للمعالجة الكيميائية للسرطان في حصول مقاومة للعوامل العلاجية المستعملة؛ ففي حين تكون هذه الأدوية فعالة في الفترة الأولى، فإن الخلايا الورمية بعد فترة (عدة أشهر) تبدي آليات تجعل هذه العوامل غير فعالة (مقاومة مكتسبة).

وقد تكون المقاومة داخلية المنشأ أيضاً، أي أن دواء معيناً ما قد يكون غير فعال إطلاقاً على الخلايا الورمية الهدفية؛ فمثلاً، هناك العديد من الجراثيم حساسة للبنسلين لأنه يثبط التفاعلات الكيميائية الحيوية النوعية المرتبطة بتخليق جدران هذه الخلايا. ولكن ليس للبنسلين أي تأثير في خلايا حقيقيات النوى، لأنها لا تخلق جدراناً، أي، يغيب عن هذه الخلايا الموضع الذي يستهدفه البنسلين. وهناك تفسير آخر للمقاومة ذات المنشأ الداخلي يتمثل في القدرة العالية للتعطيل الأيضي للدواء المتناول والمتواسط عادة بأنواع السيتوكروم P450 (الفصل 61).

الاستعمال العلاجي	موضع التأثير	مثال	صف المركب
الورم النقوي	يؤلكل الدنا (DNA) وجزيئات أخرى	مِلفالان	العوامل المؤلكلة
			مضادات المتأيضات:
ابيضاض الدم النقوي الحاد	ينقلب إلى نوكليوتيد «مخادع» ويثبط إنشاء البيورين	مركبتوبيورين	مناهضات البيورين
سرطان القولون والمستقيم	ينقلب إلى نوكليوتيد «مخادع» يثبط مخلقة الثيميديلات	فلوروپوراسيل	مناهضات البَيريميدين
السرطانة المشيمائية	يثبط مختزلة ثنائي هيدرو الفولات	ميثوتركسات	مناهضات الفولات
داء هودجكين	يقتحم الدنا ويثبت معقد الدنا ـ طوبوإيزوميراز II	دكسوروبيسين	الصادات الحيوية المضادة للأورام
سرطانة الرئة	يسبب تكسر الطاق في الدنا (DNA)	سيسبلاتين	عوامل أخرى
الابيضاض النقوي المزمن	يثبط مختزلة الريبونوكليوتيد	هيدروكسي يوريا	
سرطانة كابوزي	يربط التوبولين، ويثبط تشكل النُّبَيْبات	ڤنبلاستين	المركبات النباتية
سرطان البروستاتة	تأثير حاصر للأندروجينات في سرطانات البروستاتة	الإستروجينات	الهرمونات الجنسية
الورم النقوي	يثبط تكاثر اللمفاويات	بردنيزون	الكورتيكوستيرويدات

الجدول 12-62 : بعض الأدوية المستعملة في المعالجة الكيميائية للسرطان1.

1- تستعمل العديد من العوامل المذكورة في الجدول بالمشاركة مع عوامل أخرى في المعالجة الكيميائية. وليست هي بالضرورة المعالجة المنتخبة للحالات المذكورة. وهناك أصناف أخرى من العوامل العلاجية الكيميائية كمعدلات الاستجابة البيولوجية (كالإنترفيرونات).

ويعتقد أن مقاومة الخلايا الورمية المكتسبة للعوامل العلاجية الكيميائية تعكس المعدلات العالية لإمكانية حصول الطفرات التلقائية. وقد لا تكون المقاومة موجهة فقط إلى الدواء، وإنما إلى بعض العوامل الأخرى غير المشابهة بنيوياً لمضادات السرطان؛ فمثلاً، إذا أظهرت مقاومة للميثوتركسات، فقد يلاحظ أيضاً حصول مقاومة الخلايا الورمية للصادات الحيوية المضادة للأورام، مثل الدكسوروبيسين وللمركبات النباتية، مثل الفنكرستين. وتعرف هذه بمقاومة الأدوية المتعددة وهي حادثة شائعة، ولها أهميتها الكبيرة، لأن حصولها قد يكون سبباً في إخفاق المعالجة الكيميائية للسرطان.

وقد تم إلقاء الضوء على الأساس الجزيئي لهذه الظاهرة عند اكتشاف أن الخلايا السرطانية التي تبدي هذه الظاهرة تحوي كميات كبيرة من بروتين يدعى البروتين السكري ـ P (P = متعدد النمط الظاهري) على أغشيتها البلازمية. ويعمل هذا البروتين كمضخة معتمدة على الطاقة تلفظ العديد من الأدوية المضادة للسرطان من الخلايا السرطانية مما يضعف من فعاليتها. وبسبب أهميته العلاجية، أصبح البروتين السكري ـ P موضوعاً للعديد من الدراسات، وقد تجمعت العديد من المعلومات عنه (الجدول 62-13). ولوحظ في الخلايا المستنبتة وجود تضخيم الجينات وطفرات نقطية (قد تؤثر في التنظيم) في الخلايا السرطانية المقاومة المحتوية على كميات عالية من البروتين السكري ـ P. ولم تحدد حتى الآن الآليات التي تنظم زيادة هذا البروتين في الخلايا السرطانية في الكائن الحي. وتبذل جهود حثيثة لتطوير مثبطات لهذا البروتين، وقد أعطت بعض الأدوية كالفيراباميل والسيكلوسبورين (من المحسسات الكيميائية Chemosensitizers) بعض الأمل؛ فعلى سبيل المثال، تبين أن البروتين السكري الكلوي ـ P يساهم في إفراغ الفاعلات بالسطح التركيبية الإيثوكزيلات غير الفينولية في بول الإنسان.

منذ اكتشاف البروتين السكري ـ P، وجد أن بروتينات أخرى تساهم في المقاومة لعدة أدوية. وتشتمل هذه على البروتين المرتبط بمقاومة الأدوية (MRP) وبروتين المقاومة الرئوية (LRP)؛ وفي بعض الحالات، يمكن أن تكون أهم من البروتين السكري ـ P في مقاومة الأدوية المتعددة؛ وهذا قيد الدراسة حالياً.

ويبدو أن هناك العديد من الآليات الأخرى التي تساهم في مقاومة الخلايا السرطانية لبعض أصناف الأدوية (الجدول 14-62).

* هو بروتين سكري مفسفت وزنه الجزيئي 170 ك. دالتون يوجد في الأغشية البلازمية، ويحوي 1280 حمضاً أمينياً، وله 12 منطقة عبر الغشاء، وطيتان رابطتان للأتب ATP، ويبدي تماثلاً مع الهيموليسين B الجرثومي.
* يعمل كمضخة تدفق تعتمد على الطاقة، تستبعد العديد من الأدوية، وهكذا يتوسط مقاومة الأدوية المتعددة (MDR).
* هو عضو في فصيلة متعددة الجينات (بما فيها *mdr2* و *mdr1*).
* منتشر بشكل واضح في الأنواع ومصان بشكل كبير.
* موجود في بعض الخلايا السوية للكلية والأمعاء... إلخ.
* تتزايد كميته في الخلايا المستنبتة المقاومة وفي الخلايا الورمية المقاومة في الكائن الحي. ويشير تزايد كميته في الكائن الحي إلى مآل سيء.
* يمكن أن يحرض بمنبهات أخرى، مثل صدمة حرارية.
* يساهم التضخيم الجيني و/أو الطفرات النقطية في MDR في الخلايا المزروعة
* عند نقله إلى الخلايا، يمكن أن يحدث فيها MDR.
* يمكن تثبيطه بالمحسسات الكيميائية كالڤيراباميل (حاصر للكالسيوم) أو السيكلوسبورين.

الجدول 13-62 : خصائص البروتين السكري – P.

[MDR: مقاومة الأدوية المتعددة (Multidrug resistance)]

أمثلة نوعية 1	الأدوية	الآلية العامة
جملة نقل طافرة	ميثوتركسات	نقص القبط
يتوسطها البروتين السكري- P و MRP و LRP	بعض الأدوية المضادة للسرطان	تزايد التدفق
نقص في تفعيل أنواع السيتوكروم P450	سيكلوفسفاميد	تنشيط غير كاف للدواء
زيادة فعالية نازعات الأمين التي تعمل على السيتوزين	سيتارابين	تنشيط زائد للدواء
زيادة أحد أنماط الميتالوثَيونينات 2	سيسبلاتين	احتجاز الدواء
إنزيم DHFR طافر	ميثوتركسات	طفرة في الإنزيم الهدف
تضخيم الجين المرمِّز للإنزيم DHFR	ميثوتركسات	زيادة في الإنزيم الهدف
زيادة إنزيمات تصليح نوعية (ناقلة ألكيل ـ الأكليل جوانين دنا (DNA) ^{6}O)	بعض العوامل المُمَثْيِلَة	آليات تصليح سريعة

الجدول 62-14: بعض الآليات الكيميائية الحيوية لمقاومة الدواء والتي توجد في الخلايا السرطانية.

1 – MRP: البروتين المرتبط بمقاومة الأدوية المتعددة؛ LRP: بروتين المقاومة الرئوي؛ DHFR، مختزلة ثنائي هيدرو الفولات.

2 – الميتالوثَيونينات هي بروتينات معدنية منخفضة الوزن الجزيئي غنية بالسيستين توجد في العصارة الخلوية وتزداد كمياتها في الكبد والكلية بشكل خاص. تقوم هذه البروتينات بربط العديد من المعادن (كالكادموم والزئبق والنحاس والزنك) واحتجازها فتنزع سميتها. ويتحرض تخليقها عادة عند التعرض لهذه المعادن (انظر الفصل 59).

يكون إنزيم التيلوميراز فعالاً في الكثير من الخلايا السرطانية، وكذلك في الخلايا السوية المتكاثرة:

القسيمات الطرفية (Telomeres) هي بنى مكونة من الدنا (DNA) والبروتينات تتوضع عند نهايتي الكروموسومات في حقيقيات النوى الدنيا والعليا. وهي تمنح ثباتية على نهايتي الكروموسومات، وتكون ضرورية لأن مشرع الرنا(RNA Primer)

عند النهاية ´5 من الطاق المتلكئ المكتمل لا يمكن أن تستبدل بالدنا (DNA)، لأن المشرع لا يجد مكاناً للارتباط (انظر الفصل 38). ويؤدي ذلك بشكل مؤكد إلى تقاصر نهايات الكروموسومات مع كل تكاثر أو تنسخ وفقد جينات هامة نتيجة لذلك. وتتألف القسيمات الطرفية في الإنسان من عدة مصفوفات (ألف أو أكثر مثلاً) من التكرارات TTAGGG عند مطاريف الطيقان التي تنتهي عند النهاية ´3. ويجرى الحفاظ على هذه التكرارات في خلايا السلالة المنتشة بفعل منتسخة عكسية خاصة هي التيلوميراز (Telomerase). وهذه المنتسخة هي بروتين نووي ريبي يحتوي في الإنسان على جزيء رنا (RNA) فيه شدفة تتميمية للتكرار TTAGGG؛ وهو يستخدم كمرصاف لتنسخ المتواليات في القسيمات الطرفية باستخدام الديوكسي نوكليوزيدات ثلاثية الفسفات المناسبة.

اكتسبت القسيمات الطرفية اهتماماً لافتاً مؤخراً، ويعود ذلك جزئياً إلى أنه قد لوحظ أنها تتقاصر خلال شيخوخة (Senescence) المزارع الأولية للخلايا. كما وجد أن الخلايا الأولية المزروعة تفتقر عموماً لنشاط التيلوميراز. ولكن عندما تصبح الخلايا خالدة في المزرعة، يلاحظ أن أطوال قسيماتها الطرفية تثبت ويظهر نشاطُ التيلوميراز. ويبدو أن هذه الملاحظات ذات صلة وثيقة بفهم ظاهرة التشيخ (Aging) وقد زاد الاهتمام عندما تبين أن الكثير من الخلايا الورمية تبدي أطوالاً قصيرة للقسيمات الطرفية أكثر من الخلايا السوية، وأن نشاط التيلوميراز موجود في معظم الخلايا الورمية، ولكنه مفقود في معظم الخلايا السوية. وقد أوحت هذه الموجودات بإمكانية جعل القسيمات الطرفية والتيلوميراز من الأهداف المفيدة في المعالجة المضادة للسرطان. ومنذ ذلك الحين تغيرت الصورة السابقة بناء على ملاحظتين.
الأولى: تبين أن عدداً من الخلايا السوية تحتوي على نشاط التيلوميراز ويبدو أن هذا الإنزيم يكون ناشطاً في الخلايا (السوية أو الخبيثة) ذات المعدل المرتفع للتكاثر.
الثانية: وجد أن الفئران التي خرب فيها الجين المرمز للتيلوميراز (الفأر عديم التيلوميراز) تكون قادرة على إحداث الأورام مما يشير إلى أن هذا الإنزيم في الفئران غير ضروري للتكون الورمي. وهناك بينات على أن التيلوميراز قد تكون فعالة في بعض الأورام وغير فعالة في بعضها الآخر؛ وهكذا ثبت أنها هدف علاجي مفيد في طيف من الأورام المنتخبة بدقة والتي تبدي نشاطاً للتيلوميراز. كما يمكن أن

يساعد قياس نشاطها على تحديد مرحلة بعض الأورام التي لا تتوفر لها واسمات جيدة.

النقائل هي الصفة الأكثر خطورة للخلايا الورمية:

النقائل (Metatasis) هي انتشار الخلايا السرطانية من موضعها البدئي الأصلي إلى أنسجة أخرى تنمو فيها كأورام ثانوية، وهي المشكلة الأكبر التي يبديها هذا المرض. والنقائل ظاهرة معقدة يصعب تحليلها لدى البشر، والمعلومات حول أساسها الكيميائي الحيوي ضئيلة. وبما أنها تعبر عن إخفاق في التآثر الخلوي ـ الخلوي فقد جرى تركيز الاهتمام على مقارنة الكيمياء الحيوية لسطوح الخلايا السوية والسرطانية، وقد لوحظ الكثير من التغيرات على سطوح الخلايا السرطانية (الجدول 62-15)، (ليست كلها ذات علاقة مباشرة بمشكلة النقائل).

وحالياً، هناك بحوث كثيرة موجهة نحو تطوير نماذج حيوانية ملائمة لدراسة النقائل. وتجرى العديد من الدراسات أيضاً لكشف النقاب عن الأدوار المحتملة لبعض البروتيازات (مثل الكولاجيناز من النمط 4) وبعض البروتينات السكرية والشحميات السفنجولية السكرية لسطح الخلية في حالة النقائل. وعلى سبيل المثال، من الممكن أن تكون التغيرات في السلاسل قليلة السكريد للبروتينات السكرية الخلوية (ثانوية لتغيرات نشاط نواقل جليكوزيل البروتينات السكرية النوعية) هامة في إحداث النقائل. وهناك أيضاً أبحاث ودراسات حالية تجرى حول تغيرات البروتينات ذات العلاقة بالتآثرات الخلوية ـ النسيجية والخلوية ـ الخلوية (مثل الإنتجرينات والكادهيرينات وجزيئات الالتصاق الأخرى كجزيئات التصاق الخلية العصبية (N-CAMs). وقد يقدم تفسير الآليات الكيميائية الحيوية للنقائل أساساً للتطوير المنطقي لمداواة أكثر فعالية ضد السرطان.

هناك ناحية أخرى ترتبط بالنقائل تتعلق بالإمداد الدموي للأورام. وقد أشار فولكمان (Folkman) إلى أن نمو الورم المترقي يكون معتمداً على تكوين الأوعية (Angiogenesis-dependent). وتستطيع الخلايا الورمية أن تفرز عوامل نمو مولدة للأوعية، مثل عامل نمو الأرومات الليفية القلوي أو الحمضي (aFGF,bFGF)،

تحرض تكاثر الخلايا البطانية وتشكل أوعية شعرية جديدة؛ وهذا ما يزيد من إمكانية التحايل في تصميم الأدوية التي تستطيع قتل الأورام بالتثبيط النوعي لنمو أوعيتها الدموية دون التأثير في الأوعية السوية. ويعمل الكثير من العلماء في هذا الحقل. وقد بين فولكمان ومساعدوه أن الأنجيوستاتين (مشتق من البلازمينوجين) والإندوستاتين (Endostatin) (شدفة كولاجينية) قد أظهرا نجاحاً فائقاً في منع نمو بعض السرطانات في الفئران.

ويمكن أن يعمل هذان العاملان بحصر المواضع الفعالة في الإنزيمات التي تهضم البلازمينوجين والكولاجين مانعة الخلايا البطانية من تشكيل أوعية دموية جديدة. وأمكن تنسيل الجينات المرمزة لهذين الجزيئين، وتجرى جهود حالياً لتثمين إنتاج هذه المركبات للسماح بإجراء التجارب في الإنسان. وإذا أثبتت النتائج الأولية وامتدت إلى الإنسان، فقد يغدو ممكناً أن تلعب المركبات التي تستهدف التكوين الوعائي دوراً عظيماً في المعالجة السرطانية وفي ميادين أخرى من الطب يكون فيها للتكون الوعائي الشاذ دور ما.

لقد قاد التقدم في فهم البيولوجيا الجزيئية للخلايا السرطانية في السنوات الأخيرة إلى تطوير معالجات جديدة أصبح بعضها يستخدم حالياً. ويلخص (الجدول 62-16) بعض هذه المعلومات.

* تبدلات في النفوذية.
* تبدلات في خصائص النقل.
* تناقص الالتصاق.
* تزايد التراص بالعديد من الليكتينات.
* تغيرات في نشاط عدد من الإنزيمات (كبعض البروتيازات).
* تغير شحنة السطح.
* ظهور مستضدات جديدة.
* فقدان بعض المستضدات.
* تبدلات في سلاسل قلائل السكريد للبروتينات السكرية.
* تغيرات في المكونات الشحمية السكرية.

الجدول 62-15 : بعض التغيرات التي اكتشفت على سطوح الخلايا السرطانية.

المعالجة	المثال أو مبدأ العلاج [1]
المضادة لتكوين الأوعية.	الأنجيوستاتين والإندوستاتين وجزيئات أخرى
المعالجة المُقَنِّعة [2] (Antisense)	موجهة ضد الجينات الورمية الرئيسة.
مُعَزِّزات الموت الخلوي المبرمج.	تطوير عوامل تنبه الموت الخلوي المبرمج في الخلايا الورمية بشكل انتقائي
مثبطات الدورة الخلوية	تطوير عوامل قادرة على تثبيط الخطوات الرئيسة في الدورة الخلوية للخلاياالسرطانية بشكل انتقائي
منبهات التمايز	حمض الريتينويك المفروق في معالجة ابيضاض الدم الحاد بطلائع النقويات
مثبطات ناقلة الفارنيزيل	ترتبط البروتينات Ras بالغشاء السطحي بواسطة الفارنيزيل، وتثبيط هذا الارتباط يلغي وظيفتها
المعالجة الجينية[2]	استبدال بروتين كابت للورم (مثل p53 و pRB) أو إنزيم تصليح طافر
مثبطات إضافة الجليكوزيل	تغير نماذج السكاكرعلى البروتينات السكرية الخلوية السطحية لتثبيط النقائل (انظر الفصل 56)
مثبطات النقائل	يمكن لمثبطات البروتيازات المختلفة (كإنزيمات البروتياز المعدنية) أن تمنع حدوث النقائل
الأضداد أحادية النسيلة	موجهة ضد المستقبلات أو جزيئات الالتصاق المُرَمَّزة بالجينات الورمية والموجودة على سطوح الخلايا الورمية (مثل التراستوزوماب (Trastuzumab)) الهرسبتين (Herceptin) ضد المستقبل (HER2)
المعالجة الضوئية	انظر الفصل 34 .
الوقاية	الأسبرين (للمساعدة على منع سرطانة القولون والمستقيم) والحد من التدخين
مثبطات الكيناز البروتينية	تبدي الكثير من الخلايا الورمية زيادة في مقادير كينازات البروتين المختلفة المساهمة في سبيل الإشعار
الريبوزيمات	يمكن أن تدرك جزيئات الرنا (RNA) (بعض جزيئات الرنا المرسال النوعية) التي تكون مميزة للخلايا الورمية نسبياً
مثبطات التيلوميراز	يمكن أن تؤثر في الخلايا الورمية التي تكون فيها التيلوميراز فعالة بنشاط
اللقاحات	حقن ببتيدات من «بروتينات نوعية للورم نسبياً» لتعزيز الاستجابة المناعية للخلايا التائية

الجدول 16-62 : بعض المعالجات المتطورة الحديثة للسرطان

1- يمكن ذكر عدة أمثلة أخرى لبعض المعالجات المدرجة .2- راجع الفصل 63.

التحريات المختبرية الكيميائية الحيوية ضرورية لتدبير مرضى السرطان:

تساعد التحريات المختبرية الكيميائية الحيوية في تدبير مرضى السرطان. فالعديد من السرطانات تترافق بإنتاج شاذ للإنزيمات والبروتينات والهرمونات (انظر مناقشة تفاقم الأورام أعلاه) التي يمكن معايرتها في المصل أو البلازما. وتعرف هذه الجزيئات بالواصمات السرطانية (Tumor Markers). وتعد معايرة بعض هذه الواصمات السرطانية الآن أساسياً في تدبير بعض أنماط السرطان (الجدول 62-17). وأدرجت تطبيقات الواصمات السرطانية في تشخيص السرطان وتدبيره في (الجدول 62-18)؛ وتبرز ثلاث نتائج أساسية من خلال دراسة الواصمات السرطانية: (1) لا يفيد اعتماد واصم سرطاني وحيد لكل أنماط السرطان أو لكل مرضى أحد أنماط السرطان. ولهذا السبب، فإن اعتماد مجموعة من الواصمات السرطانية يكون مفيداً في بعض الأحيان؛ (2) وغالباً ما تكشف الواصمات في المراحل المتقدمة من السرطان أكثر مما هي في مراحله المبكرة، والتي قد تكون عندها أكثر فائدة؛ (3) ومن ضمن استعمالات الواصمات المدرجة في (الجدول 62-18)، يمكن اعتبار مراقبة الاستجابة للعلاج وكشف نكس (رجعة) المرض بشكل مبكر هي الأكثر نجاحاً.

السرطان المرافق	الواصم
القولون، الرئة، الصدر، البنكرياس	المستضد الجنيني السرطاني (CEA)
الكبد، الخلايا المنتشة	ألفا – فيتوبروتين (AFP)
الأرومة الغازية، الخلايا المنتشة	موجهة الغدد التناسلية المشيمائية البشرية (hCG)
الدرقية (السرطان اللبي)	الكالسيتونين (CT)
البروستاتة	الفسفاتاز الحمضية البروستاتية[1] (PAP)

الجدول 62-17 : واصمات سرطانية مفيدة سريرياً.

1 – تفيد معايرة المستضد البروستاتي النوعي (PSA) في مراقبة رجعة أو استمرار سرطانة البروستاتة بعد الجراحة. وتشير الزيادة في PAP عادة إلى الامتداد الموضعي أو النقائل.

الكشف: تقصي الأشخاص الذين ليس لديهم أعراض.

التشخيص: تمييز الحالات الخبيثة عن الحميدة.

المراقبة: التنبؤ بتأثير الدواء وكشف رجعة السرطان.

التصنيف: اختيار المعالجة والتنبؤ بسير الورم (الإنذار).

تحديد المرحلة: تحديد مدى شدة المرض.

التوضع: التفرس النووي للأضداد المشعة المحقونة.

المعالجة: عوامل سامة للخلايا موجهة نحو الخلايا المحتوية على الواصم.

الجدول 62-18 : تطبيقات الواصمات السرطانية.

الخلاصة:

تتميز الخلايا السرطانية (الخبيثة) بفقدان السيطرة على النمو والغزو والنقائل. وتفقد خلايا الأورام الحميدة قدرتها على السيطرة على النمو، ولكنها لا تنتقل. وقد يحصل السرطان نتيجة عوامل فيزيائية أو كيميائية أو حيوية. وتخرب هذه العوامل الدنا (DNA) أو تغيره، وهكذا فإن السرطان هو بحق مرض المجين. ويمثل الإبتداء والتعزيز ظاهرة مثبتة في التسرطن الكيميائي وقد يؤدي الأول إلى تخريب الدنا (DNA)، ولكن ما زالت الآليات المساهمة في الثاني بحاجة لمزيد من الإيضاح، وتعد إسترات الفوربول من العوامل المحرضة الأكثر دراسة، فهي تفعل الكيناز البروتينية C التي تحدث مجموعة من التأثيرات.

تتركز معظم الدراسات الجارية حالياً في مجال السرطانات على دراسة الجينات الورمية والجينات الكابتة للورم. وقد نشأ مفهوم الجينات الورمية من دراسة الڤيروسات المولدة للورم. وتحتوي الخلايا السوية على طلائع كامنة للجينات الورمية تدعى طلائع الجينات الورمية. ويحصل تفعيل هذه الجينات إلى جينات ورمية بخمس آليات على الأقل (غرز المِعزاز والمحرض والإزفاء الكروموسومي وتضخيم الجين والطفرة النقطية). وتؤثر الجينات الورمية المنشطة على نمو الخلايا بتشويش

الآليات الخلوية السوية للسيطرة على النمو، وبالعمل كعوامل نمو ومستقبلات، وربما عبر وسائل أخرى.

تعمل عوامل النمو بأساليب صماوية أو نظيرة صماوية أو ذاتية تؤثر على انقسام الخلية، وقد يبدي بعضها تأثيرات سلبية (مثل TGFβ). وتعمل بعض نواتج الجينات الورمية (كناتج *sis*) كعوامل نمو.

تعرف الجينات الكابتة حالياً بأنها لاعب رئيسي في توليد السرطان. وقد شبه تأثير الجينات الورمية على نمو الخلية كوضع القدم على مسرع السيارة، في حين شبه عمل الجينات الكابتة للورم برفع القدم عن كابت السيارة. ومن الجينات الهامة الكابتة للورم *P53* و *RB1*، وكلاهما من البروتينات النووية المفسفتة، وربما تؤثران في إنتاج الجينات المساهمة في تنظيم أحداث دورة انقسام الخلية. ويعد سرطان القولون والمستقيم نموذجاً جينياً هاماً يظهر تفاعل الجينات الكابتة للورم والجين الورمي *K-RAS*. وقد وجد أن الطفرات في جينات تصليح سوء الازدواج تترافق مع سرطان القولون الوراثي غير السليلي؛ كما يبدو أن غياب الاستجابة لتأثير TGFβ المثبط للنمو هام في ظهور هذا النمط من السرطان. ولقد تم عزل عدد من الجينات التي تزيد الاستعداد للسرطان (مثل *BRCA1* و *P53* و *RB1* و *BRCA2*). ويعكس ترقي الورم عدم ثباتية مجين الورم؛ وقد يكون ذلك نتيجة ـ ولو جزئياً ـ لعيوب جمل تصليح الدنا (DNA) وتفعيل جينات ورمية إضافية وتعطيل جينات إضافية كابتة للورم. ودرست ظاهرة النقائل بشكل كبير، وقد تتضمن هذه الظاهرة التغيرات في المركبات المقترنة بالسكريات وتغير أنشطة البروتياز وتغيرات في جزيئات التصاق الخلايا.

تعمل العوامل المستخدمة في المعالجة الكيميائية المضادة للسرطان على مواضع كيميائية حيوية مختلفة. وتعد مقاومة العقاقير المضادة للسرطان ظاهرة هامة، وإحدى آليات المقاومة لعدة أدوية تشمل البروتين السكري P. وقد نوقشت عدة معالجات حديثة اعتماداً على التقدم الحديث في فهم بيولوجية السرطان. وتتحرر بعض الإنزيمات والبروتينات من الخلايا الورمية إلى الدم، وتفيد كواصمات سرطانية في التشخيص وفي مراقبة المعالجة ورجعة المرض.

*** References:**

Bish JM: cancer: What should be done? *Science* 1997;278:995. (The same issue [November 7] contains a number of review articles on various aspects of cancer, collectively entitled Frontiers in Cancer Research.)

Greider CW: Telomerase activity. Cell proliferation, and cancer. *Proc Nat Acad Sci USA* 1998;95;90.

Kinzler KW, Vogelstein B: Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 1996;87:159.

Loeb LA: Mutator phenotype may be required for multistage carcinogenesis. *Cancer Res* 1991;51:3075.

Massague´ J: TGF-β signal transduction. *Ann Rev Biochem* 1998;67;733.

Miller U, Marx J: Apoptosis. *Science* 1998:281:1301. (This issue [August 28] contains a number of review articles on various aspects of apoptosis.)

Pennisi E: How a growth control path takes a wrong turn to cancer. *Science* 1998;281:1438. (Summarizes recent work on the role of the WNT pathway. the APC protein. And β-catenin in the development of colorectal cancer.)

Rennie J. Rusting R: Making headway against cancer. *Sci Am* 1996;275:56. (This issue [September] contains over 20 articles surveying many aspects of cancer).

Tannock IF. Hill RP (editors): *The basic Science of Oncology*. 3rd ed. McGraw-Hill, 1998.

Vogelstein B. Kinzler KW (editors): *The Genetic Basis of Cancer*. McGraw-Hill,1998.

Zetter BR: Angiogenesis and tumor metastasis. *Annu Rev Med* 1998;49:407.

الفصل الثالث والستون

الأسس الكيميائية البيولوجية والجينية للمرض

Biochemical and Genetic Bases of Disease

مقدمة:

لقد ذكرنا في الفصل الأول أن المعلوماتِ الكيميائية الحيوية أساسية لفهم الحالة الصحية والحفاظ على الصحة ولفهم المرض ومعالجته الفعالة. وبعبارة أخرى، تقدم الكيمياء الحيوية إطاراً منطقياً يعتمد على المبدأ التجريبي لدراسة حالتي الصحة والمرض. وستجد العديد من الأمثلة عن الشذوذات الكيميائية الحيوية التي تؤدي إلى تراجع في الصحة وظهور المرض منثورة بين دفتي الكتاب.

ويهدف هذا الفصل إلى ما يلي:

1– التأكيد على أهمية تحديد الشذوذات الكيميائية الحيوية الدقيقة التي تؤدي إلى فقدان الصحة وظهور المرض، لأن فهم ذلك يتبعه بالضرورة معالجة منطقية.

2 – مناقشة مختصرة لأسباب المرض من وجهة نظر كيميائية حيوية، والتأكيد على أن المرض ينجم عن تغيرات إما في بنى بعض الجزيئات (كالدنا (DNA) والبروتينات) أو وظيفتها أو كميتها أو عن اضطراب مختلف التفاعلات والعمليَّات الكيميائية الحيوية.

3 – تقديم المظاهر الكيميائية الحيوية للمرض بشكل عام ومختصر يشمل الأمراض

الوراثية بشكل خاص. ولدعم هذا الهدف، سنشرح أيضاً النواحي المختلفةَ لتقنية الدنا (DNA) المأشوب (الفصل 42) ومشروع الجينوم البشري وتطبيقاتها في مجالي الطب والبيولوجيا.

ويعرض (الفصل 64) الأسس الكيميائية الحيوية لعدد من الاضطرابات العصبية النفسية. أما (الفصل 65) فيعطي أمثلة عديدة عن قيمة المعلومات الكيميائية الحيوية في التقويم السريري وذلك بتقديم قصص لتسع حالات يغطي كل منها واحداً من أهم أسباب الأمراض المُدْرَجة في (الجدول 1-1).

يقود إيضاح الأسس الكيميائية الحيوية للصحة والمرض بشكل عام إلى المعالجة الرشيدة للمرض:

يؤدي توضيح الأسس الكيميائية الحيوية للصحة والمرض بشكل عام إلى المعالجة المنطقية للمرض. وسيكون من الواضح لدى قراءة هذا الفصل أن الحفاظ على الصحة يعتمد على التناول الكافي للماء والحريرات (والسعرات) والڤيتامينات وبعض الفلزات والأحماض الأمينية والأحماض الدهنية. وإذا اخترنا الڤيتامينات كمثال على إحدى هذه المجموعات من المركبات، نجد أن معرفة دورها الرئيسي في الأيض ونتائج أعوازها أدى إلى التوصل إلى معالجة صحيحة لهذه الأعواز كمعالجة البثع (الإسقربوط: Scurvy) والرخد (كُساح الأطفال: Rickets) والبري بري بإعطاء الڤيتامينات C و D والثيامين (B_1) على الترتيب. ويوضح هذا المبدأ الطبي الأساسي الذي يقول بضرورة معرفة سبب المرض والآليات المساهمة في إحداثه للحصول على علاج فعال وجذري لهذا المرض. وفي الوقت الحالي، ما زالت أسباب العديد من الأمراض الهامة مجهولة، كما في مرض ألزهايمر والتصلب العصيدي والتهاب المفاصل الروماتويدي والفصام.

وهكذا، فإن معالجة هذه الحالات تكون أعراضية وتجريبية (Empirical) عموماً، ولا تعتمد على تصحيح الشذوذ الحاصل، ولا تكون فعالة بشكل عام. لذلك، تكون التكاليف الاقتصادية والبشرية لعدم المعرفة هذه كبيرة جداً.

ومع ذلك، فإنه حتى لو عرفت الطبيعة الجزيئية للمرض، فقد يكون من المستحيل

التوصل إلى المعالجة المناسبة بسبب الحواجز ـ التقنية أو غيرها ـ أمام قابلية تصحيح الشذوذ الأساسي كما في حالة فقر الدم المنجلي والذي لم نتمكن حتى الآن من تصحيح الشذوذ الحاصل في الدنا (DNA) فيه. وتشير أبحاث المعالجة الجينية إلى أنه قد يمضي وقت طويل قبل أن تُطبَّق هذه المعالجة على المرض أو على غيره من الاضطرابات الوراثية الأخرى.

لجميع الأمراض أساس كيميائي حيوي:

لقد أُدرجت في (الجدول 1-1) الأسباب الأساسية للمرض. وتعتمد الحياة ـ كما نعلم ـ على التفاعلات الكيميائية الحيوية، فإذا توقفت يحصل الموت. وتعتمد الصحة على العمل المتناغم والمنظم لآلاف التفاعلات والعمليات الكيميائية الحيوية التي تحصل في الخلايا السوية، والتي تعمل على المحافظة على ثبات الوسط الداخلي (مع الأخذ بالحسبان الباهاء (pH) والأسمولية وتركيز الكهارل..إلخ).

ينشأ المرض عن تغيرات إما في البنية (مثل الدنا (DNA) في المرض الوراثي) أو في كمية بعض الجزيئات الحيوية، أو عن اضطرابات في التفاعلات أو العمليات الكيميائية الحيوية الهامة. وتتحرض هذه الآليات، سواء أكانت مستمرة أم مؤقتة، بأسباب وردت في (الجدول 1-1)، وتؤدي غالباً إلى تغيرات شديدة في الوسط الداخلي، بحيث أن الآليات المعاوضة لا تستطيع أن تعمل إلا لفترة محددة من الزمن.

وفي حين كان العرض السابق للأمراض مختصراً ومفيداً، إلا أنه بسيط. فالأمراض تظهر كشذوذات في بنية الخلايا والأعضاء والأجهزة ووظيفتها تنشأ عن آليات كيميائية حيوية. ورغم أن المرض يعكس أحداث الخلل الحاصل، إلا أنه يعكس من ناحية أخرى عوامل فيزيولوجية وثقافية واجتماعية وعوامل أخرى. ويجب على الطبيب أن يتعامل مع المريض كوحدة متكاملة آخذاً بالحسبان العوامل الاجتماعية والثقافية والنفسية والاقتصادية وغيرها، مع الاعتماد دائماً على المعلومات الكيمائية الحيوية والفيزيولوجية والآليات المرضية الباثولوجية.

يجب مراعاة ست نقاط عند تقدير المرض من وجهة النظر الكيميائية الحيوية:

1 – العديد من الأمراض محددة وراثياً: ولهذا الأمر أهميته الخاصة، لذلك سيكون له معالجة منفصلة لاحقاً.

2 – تتأثر جميع أصناف الجزيئات الحيوية الموجودة في الخلايا بنية أو وظيفة أو كمية بهذا المرض أو ذاك: وقد شرحت هذه النقطة بأمثلة مختصرة في (الجدول 63-1) ويمكن للجزيئيات الحيوية أن تتأثر بشكل أولي أو ثانوي، ففي الأمراض الوراثية يكون العيب الأولي في الدنا (DNA)، في حين تتأثر بنى الجزيئات الحيوية الأخرى ووظائفها وكمياتها بشكل ثانوي.

3 – قد تحصل التغيرات الكيميائية الحيوية التي تسبب المرض بشكل سريع أو بطيء: تتفاقم بعض الأمراض بسرعة، فعلى سبيل المثال، قد يحصل الموت خلال دقائق أو أقل بعد خثار وعائي كبير، مما يؤكد حقيقة أن معظم الأنسجة (القلب والدماغ في هذا المثال) حساسة جداً لنقص الأكسيجين والوقود (مثل الجلوكوز للدماغ). وهناك مثال قوي على الاعتماد على الأكسجين يتمثل في حقيقة أن السيانيد (الذي يثبط أكسيداز السيتوكروم) يقتل خلال عدة دقائق. ويمكن أن يؤدي النقص الكبير في الماء والأيونات في داء الكوليرا إلى تهديد الحياة خلال ساعات وبشكل عام، فإن التغيرات الكبيرة والسريعة لكميات بعض الكهارل (مثل K^+) أو لتوزعها في الجسم تشكل خطورة سريعة، وذلك بسبب حساسية عضلة القلب لهذه التغيرات (جزئياً على الأقل).

ويمكن أيضاً ألا يتحمل الجسم التغيرات الشديدة في الباهاء (pH) سوى لفترة بسيطة. ومن ناحية أخرى، قد يحتاج بناء جزيء (كذلك الناجم عن عوز في إنزيم يحلولي مسؤول عن تدركه السوي) قادر على التأثير في وظيفة العضو إلى عدة سنوات، والمثال على ذلك هو التراكم البطيء نسبياً للسفنجوميلين في الكبد والطحال الذي يحصل في الحالات البسيطة من داء نيمان ـ بيك. ويمثل كل ما سبق تصنيفاً سريرياً للأمراض إلى أمراض حادة وأخرى مزمنة.

الجزيء الحيوي	الخاصية المتأثرة	المرض	السبب الأساسي
الدنا (DNA)	البنية	فقر الدم المنجلي	طفرة
الرنا (RNA)	البنية	الثلاسيمية (أنماط معينة)	طفرة تؤدي إلى تضفير خاطئ للرنا المرسال (mRNA)
البروتين	البنية / الوظيفة	فقر الدم المنجلي	طفرة
الشحوم (GM_2)	زيادة الكمية	مرض تاي ـ زاكس	طفرة تؤدي إلى إنزيم هكسوزامينيداز A مَعيب
عديد سكريد (الجليكوجين)	زيادة الكمية	أدواء اختزان الجليكوجين	طفرة في جين إنزيم تدرك الجليكوجين (كالفسفوريلاز)
GAG سلفات الديرماتان وسلفات الهيباران)	زيادة الكمية	متلازمة هيرلر	طفرة تؤدي إلى إنزيم إيديورونيداز معيب.
الكهارل (Cl^-)	زيادة الكمية في العرق	التليف الكيسي	طفرة في البروتين الغشائي المؤثر في نقل Cl^-
الماء	نقص الكمية	الكوليرا	عدوى الأمعاء الدقيقة بضمة الكوليرا، يؤدي إلى فقدان كبير للماء والكهارل.

الجدول 63-1 : أمثلة لاكتناف جزيئات حيوية مختلفة في الأمراض.

4 – قد تحصل الأمراض نتيجة عوز أو زَيْد في بعض الجزيئات الحيوية: جرى توضيح هذه الحالة جيداً عند دراسة عوز الڤيتامين A وزَيْدُهُ (في الفصل 53). ويؤدي عوز هذا الڤيتامين إلى العمى الليلي في حين يؤدي تناول كميات كبيرة منه إلى حالات تسمم حاد أو مزمن. وبشكل مماثل، يؤدي عوز الڤيتامين D إلى الرخد، أما زيادته فتؤدي إلى فرط كالسيوم الدم. وعند التفكير في الأعواز الغذائية، يكون من المفيد أن نعزوها إلى أسباب بدئية (مدخول غذائي ضعيف) أو أسباب ثانوية.

وتضم الأسباب العامة للعوز الثانوي سوء الامتصاص وتزايد الحاجة وسوء الاستهلاك وزيادة الإفراغ. ويمكن أن ينجم كلٌّ من هذه الأسباب الأربعة عن عدد من الأمراض أو الحالات.

5 – تساهم كل من العُضيات الخلوية في إحداث الأدواء المختلفة: يوضح (الجدول 2-63) هذه الفكرة حيث أُدرجت فيه بعض العضيات الخلوية المساهمة في عدد من الأمراض المختلفة.

العضي	المرض/ الأمراض	الآلية
النواة	معظم الأمراض الوراثية	طفرات في (DNA)
المتقدرات	أمراض عديدة، بما فيها الاعتلال العصبي البصري الوراثي (من نمط ليبر) والاعتلالات العضلية المتقدرية	طفرات في الدنا (DNA) المتقدري تؤثر في بنى البروتينات (مثل نازعة هيدروجين NADH) التي ترمَّز من قبل المَجين المتقدري.
الشبكية الهيولية الباطنة	التسمُّم الكيميائي، مثلاً بعد تناول CCl4 (رابع كلوريد الكربون)	تفعل الإنزيمات في الشبكة الهيولية الباطنة، مثل السيتوكروم P450، مواد كيميائية عديدة وتحولها إلى أنواع محتملة السمية
جهاز جولجي	مرض الخلية I	نقص إنزيم ناقلة فسفات أسيتيل الجلوكوزامين (GlcNAc) في جهاز جولجي مما يؤدي إلى سوء توجه إنزيمات اليَحلولات وإفرازها في الخلايا المصابة.
الغشاء البلازمي	انتقال الخلايا السرطانية	يعتقد أن التغيرات في قلائل سكريد البروتينات السكرية في هذا العضي تلعب دوراً هاماً في السماح بحدوث النقائل.
اليُحلولات	أمراض الخزن اليحلولي	نقص نشاط (ناجم عن الطفرات) إنزيمات الحلمهة العديدة الموجودة في اليُحلولات، يؤدي إلى تراكم جزيئات حيوية مختلفة.
الجسيمات البيروكسية	متلازمة زلڤيجر (متلازمة دماغية كبدية كلوية) وغيرها	نقص التكوين الحيوي للجسيمات البيروكسية، ونقص نشاط بعض إنزيماتها، مثل ناقلة (ترانسفيراز) أسيل ثنائي هيدروكسي أسيتون فسفات.

الجدول 2-63 : اكتناف العضيات داخل الخلوية الرئيسية في العديد من الأمراض.

6– يمكن أن تؤدي آليات كيمائية حيوية مختلفة إلى موجودات مختبرية وإكلينيكية ومرضية متشابهة: يملك الجسم عدداً محدوداً من طرق التفاعل مع أسباب المرض المذكورة في (الجدول 1-1) وقد أدرج أكثرُها أهمية في (الجدول 63-3) ومع ذلك، فإن هذه العمليات قد تنتج عن عدد من المنبهات المختلفة، فمثلاً، قد تسبب العديد من الڤيروسات والجراثيم التهاباً حاداً أو مزمناً. وبشكل مماثل، قد يحصل تضخم الكبد أحياناً بسبب تراكم جليكوزيل السيراميد، إلا أنه يحصل بشكل أكثر شيوعاً كنتيجة لقصور القلب أو النقائل (Metastases) وقد ينجم تليف الكبد (التشمع) عن الكحولية المزمنة وعن زيادة النحاس (داء ويلسون) وزيادة الحديد (داء ترسب الأصبغة الدموية الأولى) وعوز مضاد التربسين ألفا$_1$ وعن أسباب أخرى.

العملية الباثولوجية (المرضية)	أحد الأسباب	مثال عن المرض	مثال للجزيء الحيوي المشارك
التهاب (حاد أو مزمن)	عدوى (جرثومية أو ڤيروسية)	التهاب رئوي	وسائط الالتهاب (البروستاجلاندينات، اللوكوترينات)
تنكس (Degeneration)	مواد كيميائية عديدة	تشحُّم الكبد	الإيثانول
تضخم عضو (كالكبد)	تراكم مركب ما	داء جوشيه	جليكوزيل السيراميد
ضمور عضو	نقص الإمداد الدموي	ضمور الكلية	نقص مختلف المواد المغذية الواردة من الدم
فقر الدم	نقص ڤيتامين أو معدن	فقر الدم بعوز الحديد	الحديد
تكون الورم	التشعيع	ابيضاضات الدم المختلفة	أذية الدنا (DNA) بالتشعيع
موت الخلية	نقص الإمداد الدموي	احتشاء العضلة القلبية	نقص الأكسجين
التليُّف	غالباً ما يتبع موت الخلية	التشمع (Cirrhosis)	تراكم الكولاجين (Collagen)
تشكُّل الحُصيّات	تركيز موضعي عال لمركب	الحصاة الكلوية في داء النقرس	حمض اليوريك

الجدول 63-3 : العمليات الباثولوجية الرئيسية التي تحدث في جسم الإنسان.

وبالإضافة لذلك، قد يؤدي العديد من الأخطاء الأيضية الخلقية إلى التخلف العقلي، وقد يؤدي العديد من الحالات إلى فرط كيتون الجسم (Ketosis). وهناك مثال آخر عن الآفات الكيميائية الحيوية المختلفة التي تؤدي إلى النتيجة النهائية نفسها، فعندما يزيد التركيز الموضعي لمركب ما عن نقطة ذوبانه بسبب زيادة تشكُّله أو نقص القدرة على التخلص منه سيترسب ويشكل حصاة. وقد تشكل كل من أوكسالات الكالسيوم وفسفات الأمونيوم والمغنيزيوم وحمض اليوريك والسيستين حصيات كلوية، ولكنها تتراكم لأسباب كيمائية حيوية مختلفة. ويكون التعميم الذي يبرز في هذه الحالة هو أن هناك أسباباً كيميائية حيوية مختلفة قد تؤدي إلى الظاهرة المرضية نفسها (كالتشمع)، أو المظاهر السريرية (كالتخلف العقلي)، أو الموجودات المختبرية (كزيادة كيتون الجسم). ومع ذلك، فهنالك إمكانية عادة للتمييز بين الأمراض التي تتشارك بالموجودات نفسها، وذلك اعتماداً على التاريخ المرضي والفحص السريري والاختبارات المخبرية الملائمة.

قد يصبح في الإمكان كشف الأسس الجزيئية لمعظم الأمراض الوراثية خلال العقد الحالي:

هناك نحو 7000 مرض أو اضطراب قد يكون لها أساس وراثي، وقد قدر أن الأمراض الوراثية تمثل نحو 10٪ من أمراض الأطفال في المستشفيات، كما أن للعديد من الأمراض المزمنة التي تصيب البالغين (مثل الداء السكري والتصلب العصيدي) أساساً وراثياً هاماً. ولقد أحدث اكتشاف تقنية الدنا (DNA) المأشوب وطرائق سَلْسَلَة الدنا (DNA) ثورة في علم الوراثة، لاسيما في المجال الطبي. ويمكن التنبؤ بأن استخدام هذه الطرائق، سوف يمكن من كشف الأسس الجزيئية لمعظم الأمراض الوراثية خلال العقد القادم.

تشكل الاضطرابات الكروموسومية وأحادية الجين وعديدة العوامل معظم أصناف الأمراض الوراثية:

يمكن تصنيف الأمراض الوراثية إلى ثلاثة أصناف رئيسية (الجدول 63-4): (1) الاضطرابات الكرة، (2) الاضطرابات أحادية الجين (وراثة مندلية كلاسيكية)، (3) الاضطرابات عديدة العوامل التي تحصل نتيجة للعديد من العوامل الوراثية

والبيئية. ويشير تعبير عديد الجينات أو الجينائي (Polygenic) إلى اضطراب تسببه عوامل جينية عديدة مستقلة عن التأثيرات البيئية. وهناك صنفان آخران هما: الاضطرابات الجسدية (Somatic). كما في العديد من أنماط السرطان التي تحصل فيها الطفرات في الخلايا الجسدية، والاضطرابات المتقدرية الناجمة عن طفرات في مجين المتقدرات، وقد ذكرت هذه الاضطرابات في (الفصلين 62 و 64) على الترتيب.

لن نناقش الاضطرابات الكروموسومية بأي تفصيل هنا، ولكن سنذكر فقط الحالات التي تحصل فيها زيادة أو نقص في الكروموسوميات أو الخَبْن لجزء من الكروموسوم أو الإزفاء. وأكثر حالة معروفة هي حالة تثلث الكروموسوم 21 (Trisomy) (متلازمة داون Down). وتعرف هذه الاضطرابات بتحليل النمط النووي (النمط الكروموسومي) (Karyotype) للفرد. ولحالات الإزفاء الكروموسومية أهمية في تفعيل الجينات الورمية (الفصل 62).

تشمل الاضطرابات أحادية الجين الجينات ذات الطفرة الوحيدة. وتصنف إلى: (1) كروموسومية جسدية سائدة (Autosomal dominant) أو (2) كروموسومية جسدية مُتَنَحِّية (Recessive) أو (3) مرتبطة بالجنس (بالكروموسوم X). ويشير التعبير "Dominant" إلى أن الطفرة تكون واضحة إكلينيكياً حتى في حال إصابة كروموسومي واحد (متغاير الزيجوت Heterozygous)، وأما تعبير متنح فيشير إلى أن الإصابة يجب أن تشمل الكروموسومين معاً (متماثل الزيجوت) حتى تظهر إكلينيكياً. وأما الاضطرابات المرتبطة بالكروموسوم X فهي تلك التي تصيب الطفرة فيها الكروموسوم X وبما أن الإناث يحملن كروموسومين X فقد تكون الإصابة لديهن إما متغايرة الزيجوت أو متماثلة الزيجوت. وهكذا، تكون الوراثة المرتبطة بالكروموسوم X لدى الإناث إما سائدة أو مُتَنَحِّية. ومن ناحية أخرى، ولأن الذكور يحملون كروموسوماً X واحداً، لذلك تحصل لديهم الإصابة إذا ورثوا الجين الطافر. ولكل من هذه الأصناف الثلاثة نمط توريث مميز، ويجب الرجوع إلى كتب الوراثة الطبية للبحث عن التفاصيل.

تشمل الاضطرابات العديدة العوامل عمل عدد من الجينات. ولا يعتمد تأكيد نمط الوراثة في هذه الحالات على القواعد المندلية. ويعرف القليل فقط عن هذا النوع من الأمراض، ولكنها حالياً تكتسب أهمية متزايدة لأن أمراض البالغين الشائعة (مثل

أمراض الإقفار القلبي وارتفاع الضغط) تنتمي إلى هذه المجموعة. وتُبذَل الجهود حالياً لتطوير الطرائق التي تكشف الجينات عديدة المساهمة في الاضطرابات عديدة العوامل.

الصنف	مثال	ملاحظات
كروموسومي	تثلث الكروموسوم 21 (متلازمة داون) (MIM 190685) الابيضاض النقوي المزمن (MIM 151410)	زيادة احتمال الإصابة بزيادة عمر الأم وجود كروموسوم فيلادلفيا.
أحادي الجين	فرط كوليسترول الدم العائلي (MIM 143890) داء رقص هنتنجتون (MIM 143100) التليف الكيسي (MIM219700) فقر الدم المنجلي (MIM 141900) بيلة الفينيل كيتون (MIM 261600) الحثل العضلي من نمط دوشين (MIM 310200) الناعور A (MIM 306700)	وراثة جسدية سائدة، طفرة في جين مستقبل LDL وراثة جسدية سائدة، ويتوفر حالياً مسبار تشخيص له. وراثة جسدية مُتَنَحِّية، وتنجم أغلب الحالات عن خبن في ثمالة الفينيل ألانين في البروتين الغشائي المنظم لنقل CI⁻ بروتين (CFTR) وراثة جسدية مُتَنَحِّية، طفرة تحول Gluإلى Val في الموضع 6 من الجلوبين بيتا. وراثة جسدية مُتَنَحِّية، طفرة في جين هيدروكسيلاز الفينيل ألانين. وراثة مرتبطة بالكروموسوم X يؤثر في تكوين الديستروفين. وراثة مرتبطة بالكروموسوم X، يؤثر على تكوين العامل VIII (AHG).
متعدد العوامل	الداء القلبي الإقفاري فرط ضغط الدم الأساسي (MIM 145500)	وراثيات معقدة، وقد تحل دراسة تعدد أشكال الدنا (DAN) للبروتينات الشحمية مشكلة الاستعداد الوراثي. نظرية المورثة الوحيدة لها مؤيدوها في هذه الحالة.

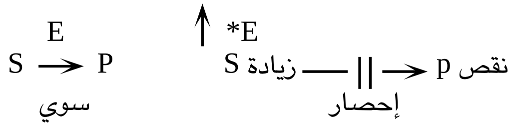
الجدول 4-63 : أمثلة لكل صنف من الأصناف الرئيسية الثلاثة للمرض الوراثي.

تقع الطفرات في قلب معظم الاضطرابات الوراثية. وقد جرت مناقشتها في (الفصل 40)، ولن تناقش منهجياً في هذا الفصل. ومع ذلك فإن الهدف الأساسي في علم الوراثيات الجزيئي هو تحديد هذه الحالات وتطوير طرائق موثوقة وحساسة لكشفها. وقد انتشرت المعلومات حول الطفرات في السنوات الأخيرة بشكل كبير، وكمثال على ذلك، تعرف ثنائيات النوكليوتيد CpG بالبقع الحارة للطفرات (انظر مناقشة *p53* في الفصل 62). وقد وجد أن هناك نمطاً جديداً من الطفرات (امتداد تتابع ثلاثي النوكليوتيد) يسبب عدداً من الاضطرابات التنكسية العصبية المزمنة الهامة. والأكثر من ذلك، ظهر العديد من طفرات المَجين المتقدري في عدد من الأمراض العصبية الأخرى وسنناقش هذين الموضوعين في الفصل القادم.

تحدث الأمراض الوراثية نتائجها المرضية عبر تغيير الدنا (DNA) والرنا (RNA) والبروتينات ووظيفة الخلية:

يمكن أن تؤثر الطفرة الحاصلة في الجين البنيوي على بنية البروتين المرمز، سواء أكان إنزيماً أم بروتيناً غير محفز، فإذا تأثر الإنزيم يحصل خطأ أيضي خلقي. وقد طرح مفهوم الخطأ الخلقي الأيضي لأول مرة من قبل طبيب إنجليزي يُدعى أرشيبالد جارود (Archibald Garrod) في أوائل القرن العشرين، معتمداً على دراساته حول البيلة الألكبتونية (Alkaptonuria) والمهق (Albinism) وبيلة السيستين (Cystinuria) والبيلة البنتوزية (Pentosuria).

والخطأ الأيضي الخلقي هو اضطراب وراثي يتأثر فيه إنزيم معين، مما يؤدي إلى حصر block أيضي يقود إلى نتائج مرضية كما سنشرح لاحقاً. والشكل التالي يشرح الإحصار الأيضي:



حيث E* = الإنزيم الطافر، X و Y = هي النواتج البديلة لأيض S وكما يبدو من الرسم، فإن الإحصار يؤدي إلى نتائج ثلاث: (1) نقص تشكيل الناتج P، (2) وتراكم الركيزة S خلف موضع الإحصار، (3) وتزايد في تشكيل نواتج الأيض البديلة X و Y للركيزة S الناجمة عن تراكم الركيزة، وقد يؤدي أي من هذه النواتج الثلاثة إلى تأثيرات مرضية. وفي حالة بيلة الفينيل كيتون (PKU) (الفصل 32)، يكون الإنزيم الطافر هو هيدروكسيلاز الفينيل ألانين، مما يؤدي إلى الحالة التالية:

زياده حمض الفينيل بيروفيك

↑   E*

نقص التيروزين ← || —— زيادة الفينيل ألانين

وهكذا، فإن مرضى بيلة الفينيل كيتون يصنعون التيروزين بنسبة أقل (ومن هنا تأتي البشرة الشقراء، لأن التيروزين يساهم في تكوين الميلانين)، ويكون لديهم مستويات بلازمية مرتفعة من الفينيل ألانين وكميات متزايدة أيضاً من الفينيل بيروفات و نواتج أيض الفينيل ألانين الأخرى في سوائل الجسم وفي البول. وما زال السبب الدقيق لسمية بيلة الفينيل كيتون غير واضح، وقد يكون ناجماً عن نقص وفرة التيروزين من أجل تكوين البروتين والنواقل العصبية في الدماغ، وكذلك عن تأثيرات المستوى العالي للفينيل ألانين المثبط لنقل الأحماض الأمينية الأخرى إلى داخل الخلية الدماغية. والنقطة الحاسمة في كل ذلك هي أن تناقص تشكيل الناتج أو تراكم الركيزة أو المتأيضات الأخرى خلف موضع الإحصار ـ وتغيرات تنظيم التلقيم الراجع أيضاً (إذا كان الموضع التفارغي للإنزيم هو المتأثر بطفرة) ـ يؤدي إلى تغير التدفق في السبل الأيضية، مما يؤدي إلى تأثيرات مرضية.

من المهم أن ندرك أن بعض الأخطاء الأيضية الخلقية غير مؤذية بالضرورة، ويعود ذلك إلى حصول الإحصار في المناطق المحيطية للأيض حيث لا يؤدي أي من تناقص تشكل الناتج أو تراكم طلائعه إلى تعطيل الخلية (كما في البيلة البنتوزية). ومن ناحية أخرى، لم نتعرف أبداً على أخطاء خلقية في حلقة حمض الليمون (حلقة حمض الستريك) لأنه نظراً لأهميتها المركزية في الأيض، فإن أي إحصار في هذه الحلقة يؤدي إلى نتائج فاجعة على الخلية يسبب موتها في مرحلة مبكرة من النمو.

قد يتسبب تأثر جين بنيوي مرمز لبروتين ما بطفرة في العديد من الحالات بتكوين بروتين طافر، وحتى لو كان التغير في حمض أميني واحد ـ كما في حالة الهيموجلوبين المنجلي S (الفصل 7) ـ فإنه قد يؤدي إلى نتائج باثولوجية فاجعة، فقد لا يعمل البروتين الطافر بشكل مناسب (بعض الهيموجلوبينات الطافرة)، وقد يتكدس (Aggregate) (الهيموجلوبين S)، أو قد يتحرك ببطء شديد ضمن الخلية (مثل مضاد التربسين ألفا$_1$).

يلخص (الجدول 63-5) المستويات المختلفة التي تحدث عندها النتائج المرضية للأمراض الوراثية. ولكن هذه المستويات ليست محصورة تماماً بما ذُكر، فمثلاً تعتمد جميع الأمراض الوراثية على التغيرات في بنية الدنا (DNA).

من الضروري اللجوء إلى التشخيص المبكر لبعض الأخطاء الخلقية لتجنب الأذية الدائمة:

كيف يمكن للمرء أن يقدر بأن لدى مريض ما خطأ أيضياً خلقياً؟ يعد ذلك موضوعاً هاماً لأنه إذا لم تبدأ المعالجة فوراً في بعض الحالات يتأذى الوليد بشكل دائم (بيلة الفينيل كيتون، الجالاكتوزيمية). ويحوي (الجدول 63-6) بعض مفاتيح التشخيص المفيدة كما يعرض (الجدول 63-7) مصادر المادة التي يمكن تحليلها والاختبارات الأساسية المستخدمة في تقصي المرضى أو الأجنة المشكوك في اصابتهم بالأمراض الوراثية. ويُطبَّق أخذ العينات من (اعتيان: Sampling) الزغابات المشيمائية أو السائل السلوي (Amniotic fluid) فقط في حالة التقصي لدى الجنين.

أدت طريقة الرفلبات (RFLPs) والواصمات الأخرى إلى إحداث ثورة في دراسات الارتباط الوراثي وسهلت بشكل كبير عزل الجينات المحدثة للمرض:

قد مكنت تقنية الدنا (DNA) المأشوب (الفصل 42) من عزل وتحليل العديد من الجينات المسببة للمرض. ولكن كيف أمكن ذلك؟ من الضروري أن نفهم مبدأ الارتباط الوراثي قبل الإجابة عن هذا السؤال.

الجدول 63-5: المستويات التي تعبر (تظهر)عندها التأثيرات الباثولوجية للأمراض الوراثية [1]، [2].

الدنا (DNA):

تغير الدنا (DNA) النووي (أنماط مختلفة للطفرات)، تغير الدنا (DNA) المتقدري (أنماط مختلفة للطفرات).

الرنا (RNA):

تغير التضفير (مثل بعض حالات الثلاسيمية).

البروتينات:

1 – تغير الإنزيمات: نقص النشاط، غيابه، زيادة النشاط (نادرة).

2 – تغير بروتينات لا إنزيمية:

– بروتينات النقل: الألبومين (فقد ألبومين الدم)، الهيموجلوبين s(HbS).

– بروتينات واقية: الجلوبولين جاما (فقد جاما جلوبولينات الدم)، الفيبرينوجين (فقد فيبرينوجين الدم).

– بروتينات بنيوية: الكولاجين (يتغير في أمراض الكولاجين المختلفة).

– بروتينات هرمونية: الثيروجلوبولين (معوز في بعض حالات الدراق العائلي).

– بروتينات الهيكل الخلوي: الديستروفين (ناقص أو غائب في الحثل العضلي من نمط دوشين).

– المستقبلات: مستقبل LDL (معوز أو متغير في فرط كوليسترول الدم العائلي).

النتائج على الخلية والأعضاء:

عوز الناتج: الميلانين (المهق).

تراكم الطلائع السامة: الفينيل ألانين أو الأحماض الكيتونية المختلفة (PKU).

اضطراب تنظيم التقليم الراجع: لتكوين البرفيرين (البرفيرية المتقطعة الحادة).

تغير وظيفة الغشاء: مستقبل LDL (فرط كوليسترول الدم العائلي)، تغير الناقل الكلوي للسيستين (بيلة السيستين).

تغير في التحاوز: يؤدي نقص ناقلة فسفات GlcNAc إلى سوء توجه (إفراز) الإنزيمات اليحلولية (داء الخلية I).

التأثير في هندسة الخلية أو النسيج:

– شكل الخلية: الخلايا المنجلية (HbS).

– تغير العضي: نقص الجسيمات البيروكسية (متلازمة زلڤيجر).

– تبدل المطرس خارج الخلوي: تبدل الكولاجين (أمراض الكولاجين المختلفة).

1– تنجم جميعُ الأمراض الوراثية عن تغيرات في الدنا (DNA)، ومع ذلك، فإنه من المفيد أن نقدر النتائج الباثولوجية عند المستويات المشار إليها، فبعضُ الأمراض تعمل على مستويين، ومعظم العيوب في البروتينات غير الإنزيمية المدرجة تؤثر في وظائف العضو، ويمكن توجيه معالجة الأمراض الوراثية إلى المستويات المختلفة المذكورة في الجدول أيضاً.

2 – ذُكرت أرقام MIM للكثير من هذه الاضطرابات في غير مكان من هذا الكتاب. وينبغي أن يراجع القارئ المهتم مصادر أخرى للوقوف على مزيد من المعلومات حول هذه الكينونات.

يعكس الارتباط الوراثي (Genetic linkage) بالأساس تقارب الجينات في الكروسومات. فإذا توضع جينان على كروموسومين مختلفين، فإنهما يبديان تفارزاً (Assortment) مستقلاً تماماً خلال الانقسام المنصف (الانتصاف) (Meiosis)، ومن ثم فهما غير مرتبطين. أما إذا كان هناك جينان متجاوران فليس من المعقول أن يكونا منفصلين خلال الانقسام المنصف، وهما حتماً مرتبطان بشدة. وأما الجينات المنفصلة عن بعضها ـ ولكنها متوضعة على الكروموسوم نفسه ـ فإنها غالباً ما تورث مع بعضها بعضاً إلا إذا حصل تأشيب (Recombination) خلال الانقسام المنصف. وكلما تباعدت المسافة بينهما على الصبغي نفسه كانت الفرصة أكبر لحدوث التأشيب خلال الانقسام المنصف. ويقاس الارتباط الوراثي بوحدة تدعى وحدة مورجان (Morgan; M) ، وهي الطول الجيني للكروموسوم الذي يحتمل أن تحصل عليه حادثة تأشيب واحدة خلال انقسام منصف واحد. ويقال إن الكروموسومين يبعدان أحدهما عن الآخر 1 سنتيمورجان (cM) إذا كانا منفصلين بمقدار 1٪ من الزمن خلال الانتقال من الأب للابن، وفي المَجين الفرداني (نحو 3 $\times 10^9$ زوج أسس قاعدي) يعادل السنتيمورجان IcM مليون زوج أسس (bp) تقريباً.

* القصة (التاريخ) العائلية للداء الوراثي.
* اختبارات التقصي الإيجابية (مثل PKU).
* الوليد المريض مع نفي وجود إصابات أخرى (عداوى، قلبية وعائية ... إلخ).
* قصة تاريخ قصور النمو البدني والتطور العقلي والبقيا.
* موجودات فيزيائية كتضخم الأعضاء (تضخم الكبد في داء جوشيه وداء نيمان ـ بيك).
* رائحة غير عادية للنفس أو البول (مثل داء بول شراب القيقب).
* انخفاض سكر الدم (مثل أمراض خزن الجليكوجين).
* انخفاض باهاء pH الدم (كتلك الناجمة عن تراكم الأحماض العضوية في داء بول شراب القيقب)

الجدول 6-63 : مفاتيح تشخيص الأخطاء الأيضية الخلقية.

ولنفرض أننا نبحث عن جين يساهم في إحداث مرض معين، فإذا كان بقرب هذا الجين موضع يمكن تمييزه (مثلاً، رفلب (RFLP) أو واصم آخر، انظر لاحقاً)، عندها يمكن أن يفيد هذا الموضع (Locus) الواصم في الدراسات الوراثية (بتحليل الارتباط) وفي عزل جين المرض. وإذا كان الموضع الواصم ملاصقاً للجين المقصود، فسيبدي الموضعان ارتباطاً قوياً عند دراسة أفراد العائلات المصابة بهذا المرض. ويمكن تحليل معطيات دراسات هذه العائلات لتحديد فيما إذا كان الموضعان مرتبطين أم لا. ويعبر حرز لود (Lod score) عن لوغاريتم الأساس 10 للفرق المؤيد للارتباط. ويكون حرز لود البالغ 3 أو أكثر (أي الفرق 1:1000 أو أكثر في صالح مقبولاً عموماً كإثبات للارتباط، أما حرز لود –2 (أي الفرق 1:100 ضد) فيشير إلى أن الموضعين غير مرتبطين.

ومن الاعتبارات الهامة في إجراء تحليل الارتباط أن تكون العائلة على علم بالموضع المصاب (حيث يكون أحد الأبوين متغاير الزيجوت، وعندها تكون شدف هضم الدنا (DNA) المحددة مختلفة خلال الهجرة، مما يساعد على التشخيص)، وأن يعرف تراصف الألائل (الطور) لدى الأبوين أو يمكن حسابه. وتسهل العائلات الكبيرة ذات التاريخ والممتدة على عدة أجيال دراسات الارتباط بشكل كبير (انظر داء هنتنجتون الفصل 64).

وينصح القارئ بالعودة إلى كتب الوراثة للوقوف على قراءة أوسع حول الارتباط الوراثي والتحليل الوراثي، حيث أصبح هذا الموضوع أساسياً في السماح بعزل المورثات المساهمة في إحداث المرض.

قبل اكتشاف تقنية الدنا (DNA) المأشوب، كان هناك بعض الواصمات القليلة المتوفرة لتحديد مواضع الجينات المساهمة في إحداث المرض. وقد أحدث كشف طريقة تعدد أشكال أطوال الشدف المتقطعة (الرفلبات RFLPs)، ومن ثم استعمالها الواسع، تغيراً في هذه الحالة. ومع ذلك، فقد حلت محل الرفلبات بالمتواليات التكرارية البسيطة (Simple sequence repeats “SSRs”) وهي وحدات صغيرة من 2-6 زوج أساس (قاعدي) مكررة بصورة مترادفة)، وتدعى أيضاً المتواليات الميكروساتلية (Microsatellites). وقد قدمت هذه الأخيرة مجالاً أكبر من تعدد

الأشكال مما تقدمه الرفلبات، ومن ثم فهي أكثر قدرة على إعطاء المعلومات. فضلاً عن ذلك، وكما سيرد لاحقاً، فقد نشرت خريطة مفصلة لنحو 30 ألف جين بشري (ثلث إلى نصف الإجمالي) عام 1998 وسييسر توفر هذه الخريطة وتوفر العدد الموافق من الواصمات في المستقبل عزل كل من الجينات السوية وتلك المترافقة مع المرض، كما اكتملت خريطة الجينوم البشري بالكامل عام 2003.

المواد :

البلازما، الكريات الحمراء، الكريات البيضاء، الأرومات الليفية، البول، خزعة من العضو، عينة الزغابات المشيمائية، خلايا سلوية (Amniotic cells).

اختبارات عامة:

جلوكوز الدم والبول، باهاء (pH) الدم، أمونيا الدم، الأحماض الأمينية في البلازما والبول، كشف الأحماض العضوية في البول، اختبارات لونية مختلفة لمتأيضات متنوعة.

اختبارات نوعية:

قياس الكميات المنخفضة للناتج أو الكميات المرتفعة للطلائع (مثل الفينيل ألانين في PKU).

قياس نشاط الإنزيم المقصود في الكريات الحمراء أو الكريات البيضاء أو الخزعة النسيجية.

الرحلان الكهربي (مثلاً الهيموجلوبين "S" HbS).

التحليل بطريقة تلطيخ ساوثرن (Southern blotting) لتعدد أشكال أطوال الشدف المتقطعة (الرفلبات RFLPs) والمظاهر الأخرى لبنية الدنا (DNA) المرتبطة أو المسببة لأمراض نوعية (مثل HbS، داء هنتنجتون، الحثل العضلي من نمط دوشين).

كشف متأيضات جديدة في البول أو البلازما بطرائق GLC-MS.

الجدول 7-63 : الاختبارات الرئيسية المستخدمة في تشخيص الأمراض الوراثية.

أصبح التنسـيل التوضعي للـجين المرشح أقوى طـريقة في عـزل جينات الأمـراض:

لقـد قـدم فـرانسـيس كـولينز (Francis Collins)، مـدير المركـز الوطـني لأبحـاث الجينوم البشـري في الولايات المتحـدة الأمـريكيـة، مـؤخـراً تصنيفاً للطرائق المتوفـرة لتنسيل الجينات المسببة لبعض الأمراض كما يلي:

1 – الأسلوب الـوظيفي: يجـري في هذه الحـالـة تمييـز الجـين اعـتمـاداً على العـيب الكيميـائي الحيوي للمرض بغض النظر عن توضـعه الكروموسوم. وكمثال على ذلك: عندما اكتشف أن عيب النمط الظاهري في HbS كان حلول الفالين بدل الجلوتامات (الفصل 7)، كان من الواضـح أن الآفة الأساسية سوف تكون طفرة في الجين المُرمِّز للجلوبين بيتا. وتم إثبـات ذلك لاحقاً عن طريق سَلسَلَة الدنا. ويجب أن نلاحظ هنا أن تورط جين الجلوبين بيتـا كمسبب لفـقـر الدم المنجلي لم يسـهل مبـاشـرة عـزل هذا الجين لأن طرائق عزل الجينات لم تتوفر إلا بعد عقد من الزمن أو أكثر.

2 – أسلوب الجين المُرَشَّح (Candidate): يطلق هذا التعبير عادة على الجينات التي يمكن لوظيفـتـهـا ـ إن فقـدت بطفـرة ـ أن تفسـر طبيـعـة المرض مجـال البحث. فمـثـلاً اعُتبرت طفرات الرودوبسين كأحد أسباب العمى العائد لاعتلال الشبكية الصباغي، وقد أثبتت الأبحـاث لاحقاً صحة ذلك تماماً. وبشكل مشابه، اعتبرت الجينات المُرَمِّزة لمستقبلات الدوبامين هي الجينات المرشحة للفصام (Schizophrenia) (الفصل 64)، ولكن لم يجر التأكد من ذلك بعد. وتعد مساهمة الجين *p53* في متلازمة لي فروميني (Li-Fraumeni) (الفصل 62) مثالاً لأسلوب الجين المرشح.

3 – التنسـيل التـوضـعي (Positional cloning): في هـذه الحـالـة، لا يكون هـناك معلومات وظيفية حول ناتج الجين ويعتمد العزل على موضـعه الكروموسومي فقط. وتتوفر المعلومات بتحليل الارتباط لعدة عـائلات مصابة. وقد جرى تنسيل العديد من الجينات المحدثة للمرض بهذا الأسلوب، وإحدى الحـالات الكلاسيكية هي عزل جين التليف الكيـسي (الحـالة رقم 7 في الفـصل 65) والتي أظهـرت دراسـات الارتبـاط الوراثي فيه وجود واصمين على جانبي الجين، بحيث تركت مسافة تقدر بنحو 1.5 مليون زوج أسـاس يجب تقصـيها بحثاً عن وجود الجين المُرمِّز للبروتين. وأبدت هذه

المسافة طفرات لدى الأشخاص المصابين بالتليف الكيسي فقط. وهناك مثال آخر هو عزل جين الحثل العضلي من نمط دوشين (DMD، الحالة رقم 6 الفصل 65). وفي هذه الحالة، كما في العديد من حالات العزل الأخرى للجينات المرضية، كان لوجود إعادة ترتيبات وراثية خلوية نوعية أهمية كبيرة في المساعدة في تحديد المنطقة من الكروموسومي التي يتوضع عليها الجين.

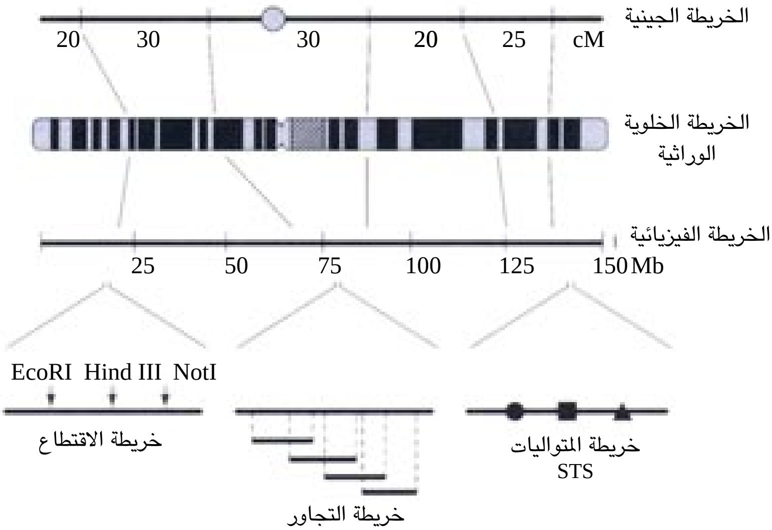
4 – أسلوب المُرَشَّح التوضعي (Positional candidate): لقد أصبحت هذه الطريقة بسرعة الطريقة المختارة، وهي تعتمد على المعلومات المتزايدة بسرعة عن الجينوم البشري، والتي يقدمها مشروع الجين البشري. ويقوم هذا الأسلوب بشكل أساسي على تحديد منطقة فرعية (Subregion) كروموسومية عن طريق دراسات الارتباط، ثم يجرى مسح ما تحت المنطقة هذه (من خلال خريطة مرجعية مفصلة) لمعرفة أي الجينات المرشحة تتوضع فيها. وقد استعملت هذه الطريقة في عزل الجين المسبب لمتلازمة مارفان (Marfan) (الفصل 75) حيث تبين أن هذا الجين يتوضع على الكروموسوم 15q، وتبين في الوقت نفسه تقريباً أن جين بروتين الفيبريلين (Fibrillin) يتوضع في المنطقة نفسها. وبعد ذلك مباشرة، أمكن كشف طفرات الجين المُرَمِّز للفيبريلين في متلازمة مارفان.

وعندما يشار إلى جين بأنه يتوضع على كروموسوم معين أو منطقة كروموسومية، فإن هناك العديد من التقنيات المتوفرة التي يمكن أن تطبق لعزل هذا الجين وسَلسَلته (الجدول 63-8) (انظر الفصل 42 أيضاً).

حتى نفهم مشروع الجينوم البشري، لا بد من استيعاب مفاهيم الخرائط الوراثية والجينية الخلوية والفيزيائية (الشكل 63-1):

تظهر الخريطة الوراثية (خريطة الارتباطات) موضع الواصمات الجينية ضمن أجزاء الدنا (DNA)، وقد استخدمت الرفلبات (RFLPs) في البداية لكن حلت محلها الآن المتواليات التكرارية البسيطة (SSRs). هذه الخرائط أكثر اختصاراً من الخرائط الفيزيائية، لأنها تدل على نماذج الوراثة أكثر من دلالاتها على الأبعاد الفيزيائية. كما أن خريطة الكروموسومات (الخرطة الخلوية الوراثية: Cytogenetic map)، لا سيما

المشتقة من تألق التهجين في الموضع (انظر الفصل 42 والجدول 63-8)، مفيدة جداً أيضاً في إثبات مواضع الجينات على الكروموسومات. وهي تفيد كخريطة تقريبية يغيب عنها الميز الدقيق للنمطين الآخرين. وتتألف الخريطة الفيزيائية من معالم مرتبة على مسافات معروفة بين بعضها بعضاً. والخريطة الفيزيائية النهائية هي تسلسل الأسس في كل كروموسوم.



الشكل 63-1 : مقارنة الخرائط الوراثية (الجينية) والخلوية والفيزيائية للكروموسوم. بالنسبة للخريطة الوراثية، تظهر العديد من الواصمات الجينية المفترضة مع المسافات الجينية بينها مقدرة بالسنتيمورجان، وتشير الدائرة إلى موقع المُريكز (Centromere) وأما بالنسبة للخريطة الخلوية فيظهر فيها نمط العصابات أو الأشرطة المدرسية للكروموسومات المفترضة، وأما الخريطة الفيزيائية فتظهر فيها التوضعات الفيزيائية التقريبية للواصمات الجينية مع المسافات الفيزيائية التقريبية المعبر عنها بأزواج ميجا أساس (Mb) وهناك أيضاً أمثلة لخريطة الاقتطاع (Restriction) وخريطة التجاور (Contig) وخريطة المتواليات STS.

الجدول 8-63 : الطرق الأساسية المستعملة لتعيين الجينات المساهمة في المرض وعزلها[1-2].

الطريقة	ملاحظات
كشف شذوذات جينية خلوية نوعية	مثلاً: كان كشف وجود خَبْن صغير في الشريط Xp21.2 هاماً في تنسيل الجين المساهم في الحثل العضلي لدوشين.
دراسات الارتباط الواسعة	يرغب بهذه الحالة في العائلات الكبيرة ذات الأنساب المحدَّدة. والتعرفُ على الجينات السائدة أسهل من التعرف على الجينات المُتَنَحِّية.
استعمال المسابير لتحديد مواضع الواصمات[2]	تستطيع المسابير تحديد RFLPs وSSPs وSTSs... الخ، ويتوفر منها حالياً الآلاف (تغطي كل الكروموسومات). ويُفضل أن تكون على جانبي الجين لترسيمه بوضوح.
رسم الخرائط الهجينة بالتشعيع[3]	تعد حالياً أسرع طريقة لتوضيع الجين أو شدفة الدنا على منطقة فرعية من الكروموسوم البشري وإنشاء خريطة فيزيائية.
استعمال هجائن الخلايا الجسدية من البشر أو القوارض	يسمح بتحديد وجود الجين على كروموسومي نوعي واحد، ولكن ليس في منطقة فرعية.
التهجين المتألق في الموضع (FISH)	يسمح بتوضيع الجين على شريط كروموسومي.
استعمال الرحلان الكهربي على الهلام بوجود حقل كهربي نابض لفصل الشدف الكبيرة للدنا	يسمح بعزل شدف الدنا(DNA) الكبيرة الناجمة عن استعمال إنزيمات نوكلياز الاقتطاع الداخلية (قاطعات نادرة)، والتي تؤدي إلى تقطيع محدد جداً للدنا(DNA)
المشي الكروموسومي (Walking)	يتضمن تنسيلاً متكرراً لشُدف الدنا (DNA) المتداخلة، وهي عملية شاقة ويمكن أن تغطي 100-200 كيلو أساس فقط.

الطريقة	ملاحظات
قفز الكروموسومات (Jumping)	بتقطيع الدنا (DNA) إلى شدف كبيرة نسبياً وتحليقه يمكن التحرك بشكل أسرع وتغطية أطوال أكبر من الدنا (DNA) بالمقارنة مع المشي الكروموسومي.
التنسيل عبر الكروموسومات الصنعية للخميرة YACs والجرثومية BACs والكوزميدات والعاثيات والبلازميدات	يسمح بعزل شدف بأطوال مختلفة.
كشف تعبير الرنا المرسال (mRNA) في النسيج بواسطة تلطيخ نورثرن، باستعمال شدفة أو أكثر من الجين كمِسبار.	يجب أن يتم التعبير عن الرنا المرسال (mRNA) في الأنسجة المصابة
التفاعل البوليميرازي السلسلي (PCR)	يمكن استعماله لتضخيم شدف الجين، وهناك تطبيقات أخرى أيضاً
سَلسَلة الدنا (DNA)	يعطي الخريطة الفيزيائية عالية المَيز، ويحدد إطار (Frame) القراءة المفتوحة. وتسمح التسهيلات التي توفرها الأجهزة المختلفة بسَلسَلة ملايين الأسس في اليوم الواحد
قواعد البيانات (Databases)	يمكن لمقارنة متواليات الدنا والبروتين التي نحصل عليها من جين غير معروف مع متواليات معروفة في قواعد البيانات أن تسهل تحديد الجين.

1– المختصرات: انظر النص. 2– جرى كشف وتصنيف العديد من تعدد أشكال النوكليوتيدات المفردة SNPs، وهي مستقرة وشائعة، ويمكن أتمتة طرق كشفها. ومن المتوقع أن تفيد بشكل خاص في رسم خريطة الخلال المعقدة كالداء السكري.3 – يستخدم رسم الخريطة الهجينة بالتشعيع الهجائن الخلوية الجسدية، وكل سلالة خلوية تحتوي على مجموعة عشوائية من دنا الجينوم البشري المُشَعّع على خلفية القَدّاد. بإيجاز: يُقَطِّع التشعيع الدنا إلى شدف صغيرة مختلفة الأطوال. فإذا كان الجين متوضّعاً قرب جين آخر معروف، يكون من المحتمل أن يبقيا مرتبطين (قارن مع الارتباط الوراثي) على الشدفة نفسها. ويجري تنميط واصمة (STS) مقابل شاكلة هجينة إشعاعية باستخدام المُشَرعتين قليلتي النوكليوتيد الخاصتين في تفاعل PCR للدنا من كل سلالة خلوية هجينة للشاكلة. وإذا أمكن تنميط ما يكفي من الواصمات لشاكلة واحدة، يمكن متابعة الارتباط على طول كل ذراع من الكروموسوم، ويمكن تجميع الواصمات على الخريطة كمجموعة ارتباط واحدة.

وللحصول على خرائط فيزيائية عالية الميز، استخدم الباحثون تقنيات مختلفة. فَبُنيت خرائط التجاور اعتماداً على المتجاورات (Contigs) التي تمثل مجموعات من النسائل المتراكبة والمرتبة. ولقد استخدمت الكروموسومات الصنعية الخميرية (Yeast artificial chromosomes "YACs") والجرثومية (Bacterial artificial chromosomes "BACs") على نطاق واسع في رسم الخرائط ذات السلم الكبير لأنها تحمل شُدفاً من الدنا أطول بكثير مما تحمله الحوامل الأخرى (كالبلازميدات والعاثيات). ومواضع التسلسلات الموسومة (Sequence-tagged sites) أو "STSs" هي مواضع من الدنا (DNA) (مثلاً 100-1000 زوج أسس مُرَمِّزة أو غير مُرَمِّزة) ذات تسلسل معروف، وبذلك يمكن كشفها في أي مختبر بواسطة مقايسة PCR نوعية باستخدام مُشَرِّعات مناسبة قليلة النوكليوتيد. ويجري الحصول على واصمات المتواليات التعبيرية (expressed sequence tags) "ESTs" بسَلسَلة شدفة من نسيلة دناً متمم (cDNA) . هذا يفضي إلى أن تكون نوعية للدنا المرمِّز. وبما أن تَسَلسُلَها معروف يمكن بسهولة مقايستها بطريقة PCR في أي مختبر. ويجب أن يعود القارئ إلى مراجع عن الوراثيات الجزيئية للحصول على المعلومات الخاصة بكيفية استخدام هذه الطرق في رسم خريطة الجينوم.

لمشروع الجينوم البشري تطبيقات هامة في دراسة الصحة والمرض:

يعد مشروع الجينوم البشري حصيلة لجهود دولية ستقدم كماً هائلاً من المعلومات الوراثية الأساسية لدراسة الصحة والمرض. وهدف هذا القسم هو وصف أهداف هذا المشروع وتقويم ما توصل إليه أكثر من إعطاء معلومات تفصيلية عن الطرائق المتبعة فيه. ويرمي الهدف بعيد المدى لهذا المشروع إلى سَلسَلة الجينوم الكامل للإنسان والعديد من نماذج الكائنات الحية الأخرى التي كانت أساساً للدراسات الوراثية (كالإشريكية القولونية والسكيراء الجعوية (جنس من الفطور) *(Saccharomyces cerevisiae)* وذبابة الفاكهة سوداء البطن *(Drosophila melanogaster)* والفأر. لقد تحققت الأهداف الأولية قصيرة المدى (1991-1995)، تم التوصل إلى خريطة جينية بشرية مع واصمات مفصولة عن بعضها البعض بمقدار

5-2 سنتيمورجان (cM) وخريطة فيزيائية للكروموسومات البشرية الأربعة والعشرين كلها (22 كروموسوماً جسدياً مع X و Y) مع واصمات ببعد بعضها عن بعض بنحو 100,000 زوج أساس. كما تضمنت الأهداف سَلسَلة مجائن بعض الكائنات الحية المذكورة آنفاً، بالإضافة إلى بعض الأمور التكنولوجية وغيرها. وقد تحققت معظم الأهداف الأولية، إن لم تكن جميعها. فعلى سبيل المثال، تمت سَلسَلة كامل مَجائن الإشريكية القولونية والسكيراء الجعوية *(S.cerevisiae)* (انظر لاحقاً). وفيما يتعلق بالجينوم البشري، اكتملت الخريطة الوراثية بميز وسطي قدره 1cM عام 1994. وفي خريف 1998، نشر الاتحاد الدولي الخريطة الفيزيائية لنحو 30 ألف واصمة معتمدة على الجينات البشرية. ولتجميع هذه الخريطة، جرى رسم خريطة فيزيائية لنحو 40 ألف واصمة STS معتمدة على cDNA تمثل نحو 30 ألف جين، ثم جرى دمجها في الخريطة الوراثية الراهنة للواصمات الميكروساتلية عديدة الأشكال. وتضم هذه الخريطة معظم الجينات التي ترمز بروتينات معروفة الوظيفة، وهي أوسع وأدق من الخرائط الفيزيائية السابقة، وستقدم مورداً هاماً للمزيد من التقدم في سَلسَلة المَجين البشري وعزل جينات الأمراض البشرية ودراسة الخلال (Traits) المعقدة وعلم مقارنة المجائن (Comparative genomics).

وبناء على ما سبق، أعلنت الأهداف الجديدة لمشروع الجينوم البشري في الولايات المتحدة في خريف 1998. وبسبب أهميتها للبيولوجيا والطب، جرى إدراجها في (الجدول 63-9). ويعطي تفحص هذا الجدول انطباعاً باهراً عن المشروع الإجمالي. ويمكن تصنيف الأهداف ضمن ثمانية عناوين: (1) تحقيق سلسلة الدنا البشري، (2) وتحسين تكنولوجيا السَّلسَلة، (3) وتحليل اختلاف المتواليات في الجينوم البشري، (4) وتطوير تكنولوجيا علم المَجائن الوظيفي، (5) والاستمرار بدراسات أخرى في علم المَجائن المقارن، (6) ودراسة التطبيقات الأخلاقية والقانونية والاجتماعية، (7) وتطوير علم المعلومات البيولوجي والبيولوجيا الحاسوبية، (8) وتدريب العلماء الشباب المهتمين بالمَجائن. وعلى العموم، فقد تم بالفعل استكمال سلسلة الجينوم البشري خلال عام 2003.

الجدول 9-63 : أهداف مشروع الجينوم البشري في الولايات المتحدة للفترة 1998-2003.

1 – تسلسل الدنا (DNA) البشري:
إنهاء سَلسَلة ثلث الدنا (DNA) البشري مع نهاية 2001 والجينوم البشري بكامله مع نهاية 2003 (أو قبل ذلك؛ وهو ما تم بالفعل)، وإتاحته للجميع مجاناً.
إنجاز تغطية لما لا يقل عن نحو 90٪ من المَجين في مسودة عمل اعتماداً على نسائل رسمت خرائطها مع نهاية 2001 .

2– تكنولوجيا السَّلسَلة:
الاستمرار بزيادة الإنتاج وإنقاص كلفة تكنولوجيا السَّلسَلة الراهنة.
دعم الأبحاث على التكنولوجيا الحديثة التي يمكن أن تؤدي إلى تحسن هام في تكنولوجيا السَّلسَلة.
تطوير طرائق فعالة للتطوير المتزايد وإدخال طرائق تكنولوجية حديثة للسَّلسَلة في عملية السَّلسَلة.

3– اختلاف تسلسل الجينوم البشري:
تطوير تكنولوجيا للتحديد والفرز السريع لتعدد أشكال النوكليوتيد المفرد (SNPs) وضروب متواليات الدنا (DNA) الأخرى.
تعيين التنويعات الشائعة في المناطق المُرَمِّزة لمعظم الجينات المكتشفة خلال فترة 5 سنوات.
إيجاد خريطة SNP لما لا يقل عن 100,000 واصمة.
تطوير أسس فكرية للدراسات على تنوع المتواليات.
إيجاد مصادر عامة لعينات الدنا (DNA) والسلالات الخلوية.

4– تكنولوجيا علم المَجائن الوظيفي:
تطوير مصادر للدنا المتمم (cDNA).
دعم الأبحاث على الطرائق الخاصة بدراسة وظائف المتواليات غير المُرَمِّزة للبروتينات.
تطوير تكنولوجيا للتحليل الشامل لعملية التعبير الجيني.
تحسين طرائق التطفير الواسع للجينوم.
تطوير تكنولوجيا لتحليل البروتينات.

5– علم المَجائن المقارن:
إتمام سلسلة جينوم *C.elegans* عام 1998.
إتمام سلسلة جينوم ذبابة الفاكهة عام 2002.

جينوم الفأر:

تطوير مصادر لرسم الخرائط الفيزيائية والوراثية.

تطوير مصادر إضافية للدنا المتمم (cDNA).

استكمال سلسلة جينوم الفأر بحلول عام 2005.

تعيين النماذج الأخرى للكائنات الحية التي يمكن أن تساهم مساهمة كبيرة في فهم الجينوم البشري، ودعم الدراسات المَجينية الملائمة.

6– التطبيقات الأخلاقية والقانونية والاجتماعية:

البحث في القضايا المحيطة باستكمال سلسلة الدنا البشري ودراسة التباين الوراثي البشري.

البحث في القضايا التي يثيرها اندماج التكنولوجيا والمعلومات الوراثية في أنشطة الرعاية الصحية والصحة العامة.

البحث في القضايا التي يثيرها تكامل المعلومات حول علم المَجائن والتآثرات الجينية البيئية في المراكز غير الإكلينيكية.

رصد الطرائق التي يمكن أن تتفاعل بها المعرفة الوراثية الجديدة مع مختلف ضروب القضايا الفلسفية واللاهوتية والأخلاقية.

رصد كيفية تأثير العوامل الاجتماعية الاقتصادية ومفاهيم العرق والأصل في استعمال المعلومات الوراثية وفهمها وتفسيرها، وفي استخدام الخدمات الوراثية وتطوير سياستها.

7– علم المعلوماتية البيولوجية (Bioinformatics) والبيولوجيا الحاسوبية:

تحسين محتوى قواعد البيانات واستخدامها.

تطوير الوسائل المناسبة لإيجاد المعطيات والحصول عليها ونشرها.

تطوير الوسائل وقواعد المعلومات للدراسات الوظيفية الشاملة وتحسينها.

تطوير أدوات تقديم التماثل والاختلاف بين المتواليات وتحليلها.

إيجاد الآليات الداعمة للأساليب الفعالة في إنتاج الإحصائيات والبرمجيات التي يمكن التشارك فيها على نطاق واسع.

8– التدريب:

تعزيز تدريب العلماء المهرة في أبحاث المَجائن.

تشجيع الدراسات الأكاديمية لعلماء المَجائن.

زيادة عدد المدارس والدارسين العارفين في كل من العلوم الجينومية والوراثية وفي الأخلاق أو القانون أو العلوم الاجتماعية الأخرى.

وتتمثل التطبيقات الطبية الأساسية لمشروع الجينوم البشري بأنه سيقدم كماً هائلاً من المعلومات الأساسية القيمة التي توضح الأسس الجزيئية للأمراض الوراثية ومعالجاتها (الشكل 63-2). وبرأي العالم ج .د واطسون الحائز على جائزة نوبل: «إنه سوف يقدم تفسيراً جزيئياً لحالتي الصحة والمرض».

لقد أصبحت المعلومات متوفرة، كما ستكون التكنولوجيا أيضاً ذات أهمية كبيرة في الحث على تطوير علم المعلوماتية البيولوجي (Bioinformatics) وتعزيز دراسات علم المَجائن المقارن والوظيفي. كما سيحدث تقدم في التكنولوجيا البيولوجية (فيما يخص تطوير نواتج جينية يمكن أن تفيد في المعالجة البشرية والحيوانية مثلاً). ويمكن تَوَقُّع ميادين جديدة مثل علم المَجائن الدوائي (Pharmacogenomics). وفيما يتعلق بالأخير، يؤمل أن تسمح مساهمة المعلومات الخاصة بالاختلاف في المتواليات البشرية بين الجينات المُرَمِّزة للإنزيمات الأساسية المساهمة في أيض الأدوية كتعدد أشكال السيتوكروم P450 (Cytochrome P450)، انظر (الفصل 61) بتطوير معالجات أكثر نوعية تأخذ بعين الاعتبار الفوارق الجينية.

لقد شجعت النجاحات الحديثة في سَلسلة المَجائن الجرثومية ضمن الوقت المحدد (انظر لاحقاً) إحدى المنظمات التعاونية للإعلان عن النية بسَلسَلة كامل الجينوم البشري قبل عام 2003. كما أعلنت منظمة أخرى أنها ستعين تسلسل المناطق المُرَمِّزة للبروتين وستركز أيضاً على تجميع SNPs (لتسهيل تحليل الخلال المعقدة بشكل رئيسي) خلال فترة مماثلة من الزمن. ولن تكون النتائج الصادرة عن هذا الجهد الأخير متاحة للجميع، لكنها ستتوفر لمن يدفع الثمن. ولقد جرى نقاش الأمور التجارية للمعلومات الجينية بشكل واسع في السنوات الأخيرة، وما تزال قضية مثيرة للنزاع.

جرت سلسلة الجينوم الكامل لما لا يقل عن 18 كائناً حياً بحلول خريف 1998:

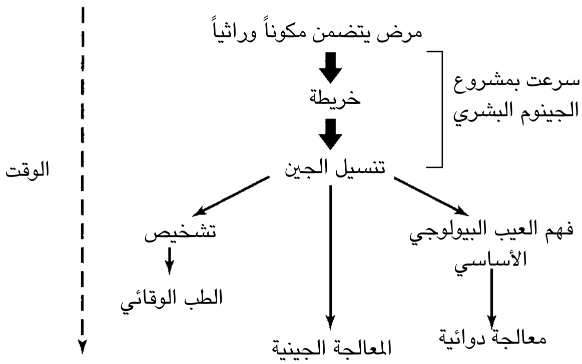
إن تشعُّبات مشروع الجينوم البشري لا تجعله يدور فقط في فلك الدائرة البشرية، فالتكنولوجيا التي أوجدته تستخدم الآن في استكشاف كافة النظم

البيولوجية. ففي عام 1995، نشرت المتواليات الجينومية الكاملة لجرثومين (المستدمية النزلية والمفطورة التناسلية *(Mycoplasma genitalium)*، وهما أول نوعين حازا هذا الشرف، وذلك من قبل فريقين كانا بقيادة كريج ڤنتر (Craig Venter). وحتى خريف 1998 تمت سلسلة مَجائن 17 كائناً حياً إضافياً بشكل كامل (الجدول 63-10)، وتضم هذه الكائنات الجراثيم المسببة للزهري والسلى. ومن بين المنجزات الأخرى الجديرة بالذكر نذكر سَلسَلة كامل المتواليات الجينومية لكل من الإشريكية القولونية والسكيراء الجعوية، وكلاهما استخدما على نطاق واسع في الدراسات الوراثية. ويرتبط توفر المعلومات المفصلة عن المتواليات الخاصة بخميرة السكيراء الجعوية ارتباطاً وثيقاً بعلم الوراثة البشري بشكل خاص، لأن هذا الكائن هو من حقيقيات النوى ويشترك بعدد من العمليات الكيميائية الحيوية مع حقيقيات النوى الأكثر تعقيداً. وقد أُنجز حديثاً إكمال جينوم *(C. elegans)* وقد وضع جينوم ذبابة الفاكهة سوداء البطن *(Drosophila melanogaster)* وجينوم الفأر على جدول الأعمال.

واستخدمت الكائنات الحية الخمسة المذكورة كلها في علم الوراثة بشكل كبير، وسيسمح توفر معلومات مفصلة عن مَجائنها بالتحليل الوراثي للمستويات الأكثر تعقيداً.

يسبب الشكل الشائع أو البري (Wild) للمستدمية النزلية *(H.influenza)* عداوى خطيرة لدى البشر. وقد تمت سَلسَلة هذه الجرثومة (1.8 ميجا أساس) بإجراء استصوات لدناها (DNA) (Sonicating) (تحطيم بالأمواج فوق الصوتية) التصويب (Shotgunning)، ثم سلسلة الأجزاء الناجمة ثم إعادة تجميع السلسلة اعتماداً على التداخلات (Overlaps) بينها. وبعكس الجينوم البشري، لا يحتاج الأمر هنا إلى رسم خريطة. وقد طبق أسلوب مشابه على المفطورة التناسلية (0.58 ميجا أساس. ويعتقد أنها تحوي أصغر جينوم بين الكائنات الحية ذاتية التضاعف selfreplicating)، وهي كائن حي يوجد في الخلايا الظهارية الهدبية للمناسل والطرق التنفسية في الرئيسات. والمدهش أنه قد جرت سلسلتها في وقت قصير لم يتجاوز ثمانية أسابيع. وقد أدرجت مقارنة بين حجم كل من الجينومين وعدد جيناتهما في (الجدول 63-11)، بالإضافة إلى تحديد الأدوار الحيوية للعديد من

الجينات التي تمت سلسلتها. ويعطي تفحص الجينات التي جرى تمييزها إشارة إلى نوع المعلومات التي يمكن أن تظهر إذا جرت سَلسَلة الجينوم البشري. ويجب أن تكون الطريقة المستعملة ممكنة التطبيق على معظم الجراثيم. وستكون المعلومات الناتجة من الدراسات المتعلقة بهذين الجينومين، ومن تلك الخاصة بالجراثيم المدرجة في (الجدول 63-10)، ذات قيمة بشكل خاص في ميدان التطور المقارن. ويمكن أن تفيد الدراسات على الجينات المساهمة في فوعة (Virulence) الجرثومة أيضاً في استنباط استراتيجيات جديدة للمعالجة.



الشكل 63-2 : التطور في الطب الجزيئي. لقد تقلص الزمن اللازم لتنسيل المرض بسرعة اعتماداً على الخرائط والطرق التي صدرت عن مشروع الجينوم البشري، وما تزال تظهر قدرات تشخيصية متطورة بشكل سريع نسبياً بسبب اكتشاف الجينات. وفي بعض الأمثلة، يسمح ذلك بالبدء باستراتيجيات الطب الوقائي الهامة (تنظير القولون لدى الأشخاص من ذوي الخطورة العالية لسرطان القولون مثلاً) وأما الجدول الزمني لتطوير المعالجات الجينية المؤثرة أو الدوائية فما يزال التنبؤ به صعباً.

الجدول 10-63 : قائمة بالمَجائن المُسَلسَلة بشكل كامل (أول 1998)[1].

العدد المقدر للجينات	**حجم الجينوم (ميجا أساس)**	**الكائن الحي**
6034	12.1	السكيراء الجعوية *(Saccharomyces cerevisiae)*
4288	4.6	الإشريكية القولونية *(Escherichia coli)*
نحو 4000	4.2	العصوية الرقيقة *(Bacillus subtilis)*
3168	3.6	أنواع الكيسية الملتصقة *(Synechocystis species)*
2471	2.2	الكروية القوسية المتألقة *(Archaeglobus fulgidus)*
غير متوفرة	2.2	العصوية الحرارية المستهوية *(Pyrobaculum aerophilum)*
1740	1.8	المستدمية النزلية *(Haemophilus influenzae)*
1855	1.8	الميثانية الحرارية ذاتية التغذية *(Methanobacterium thermoautotrophicum)*
1590	1.7	الملوية البوابية *(Helicobacter pylori)*
1692	1.7	المكورة الميثانية المبفسجة *(Methanococcus jannaschii)*
1508	1.5	الأوليكية المائية *(Aquifex aolicus)*
863	1.3	البورلية المحصنة *(Borrelia burgdorferi)*
1234	1.1	اللولبية الشاحبة *(Treponema pallidum)*
677	0.8	المفطورة الرئوية *(Mycoplasma pneumoniae)*
470	0.6	المفطورة التناسلية *(Mycoplasma genitalium)*

1 ـ تشتمل القائمة على العوامل التي تؤدي إلى الزهري (اللولبية الشاحبة) والعديد من حالات القرحة الهضمية (الملوية البوابية) وداء لايم (البورلية المحصنة). كما تؤدي بعض العوامل الأخرى المدرجة آنفاً إلى عداوى في الإنسان. وقد جرى أيضاً سلسلة مَجائن C. elegans والمكورة الحرارية الهوريكوشية (Pyrococcus horikoshii) والمتفطرة السلية (العامل المسبب للسل) والمتدثرة الحثرية (العامل المسبب للتراخوما، وهو السبب الرئيسي للعمى الذي يمكن اتقاؤه ولعدد من حالات العداوى في السبيل التناسلي).

لقد شجع النجاح الذي أنجزه ڤنتر ومساعدوه في سَلسَلَة المَجائن الجرثومية (باستعمال أسلوب القَسْر) على استخدام طرائق مماثلة في سَلسَلَة الجينوم البشري. ومن المقترح استخدام نحو 230 متوالية عالية الإنتاجية يمكنها توليد قدرة يومية مشتركة لسَلسَلَة نحو 100 ميجا زوج أسس لمتواليات جديدة. وقد بدأ هذا البرنامج، وجرى التخطيط له، بحيث يكتمل في غضون 3 سنوات. ومن المهم مقارنة التقدم الحاصل في هذا الجهد مع ذلك المنجز في مختبرات السلسلة التي تمثل جزءاً من مشروع الجينوم البشري.

تتوفر المعالجة الناجحة لبعض الأمراض الوراثية:

تعتمد معالجة المرض الوراثي بشكل عام على إحدى الآليات التالية: (1) محاولات تصحيح النتائج الأيضية للمرض بإعطاء الناتج الناقص أو بالحد من توفر الركيزة، (2) ومحاولات استبدال الإنزيم أو البروتين الغائب أو زيادة نشاطه، (3) ومحاولات نزع زيادة المركب المختزن، (4) ومحاولات تصحيح الشذوذ الجيني الأساسي عبر المعالجة الجينية (الجدول 63-12).

إن بعض هذه الأساليب فعالة تماماً في معالجة بعض الاضطرابات كالمعالجة بالحمية في بيلة الفينيل كيتون والجالاكتوزيمية، والمعالجة التعويضية في حالة الناعور (Hemophilia) وفقد الجلوبولينات جاما من الدم (Agammaglobulinemia)، ونزع الحديد بالفصادة الدورية (Periodic bleeding) في داء ترسب الأصبغة الدموية (Hemochromatosis) ومع ذلك، فإن محاولات المعالجة الإنزيمية لم تحظ سوى بقدر ضئيل من النجاح. ومن المشاكل التي اعترضت هذه المحاولات المصادر الجيدة للإنزيمات البشرية (المشيمة كانت مناسبة في بعض الحالات) وتهديف الكميات الكافية من الإنزيمات إلى العضو المناسب والمحافظة على فعاليتها في الأنسجة التي يمكن أن تدركها بسرعة. وتبقى المعالجة الإنزيمية صعبة بشكل خاص في حالة الدماغ، لأن الإنزيمات المعطاة يجب أن تصنع بحيث تعبر الحاجز الدموي الدماغي.

الجدول 63-11 : ملخص لمحتوى الجينوم في المستدمية النزلية والمفطورة التناسلية مصنفة وظيفياً. وقد أدرج عدد الجينات في كل صنف وظيفي لكل منهما. ويشير الرقم بين قوسين إلى النسبة المئوية للجينات المميزة افتراضياً والمخصصة لكل صنف وظيفي. وأما بالنسبة إلى مجموعة الجينات غير المنوه عنها، فتدل النسبة المئوية للجينوم الموجودة ضمن قوسين إلى النسبة المئوية للعدد الكلي لمناطق الترميز المفترضة.

الدور البيولوجي	المستدمية النزلية[1]	المفطورة التناسلية[2]
التخليق الحيوي للأحماض الأمينية	68 (6.8)	1 (0.3)
التخليق الحيوي للتمائم العاملة	54 (5.4)	5 (1.6)
المحفظة الخلوية	84 (8.3)	17 (5.3)
العمليات الخلوية:	53 (5.3)	21 (6.6)
انقسام الخلية	16	4
قتل الخلية	5	2
الشابيرونات	6	7
نزع السمية	3	1
إفراز البروتين	15	6
التحول (Transformation)	8	1
الأيض المتوسط المركزي	30 (3)	6(1.9)
أيض الطاقة:	112 (10.4)	31 (9.7)
الهوائي	4	3
الأحماض الأمينية والأمينات	4	0
اللاهوائي	24	0
التقلب البيني للبروتونات و ATP	9	8
نقل الإلكترون	9	0
سبيل إنتنر ـ دودوروف Entner - Doudoroff	9	0
التخمر	8	0
استحداث الجلوكوز	2	0
تحلل السكر	10	10

الدور البيولوجي	المستدمية النزلية[1]	المفطورة التناسلية[2]
سبيل فسفات البنتوز	3	2
نازعة هيدروجين البيروڤات	4	4
السكاكر	15	4
حلقة حمض الستريك	11	0
أيض الأحماض الدهنية والشحميات الفسفورية	25 (2.5)	6 (1.9)
البوررينات والبيريميديات والنوكليوزيدات والنوكليوتيدات:	53 (5.3)	19 (6.0)
أيض 2 – ديوكسى ريبونوكليوتيد	8	3
التقلب البيني للنوكليوتيد والنوكليوزيد	3	1
التخليق الحيوي لريبونوكليوتيد البورين	18	3
التخليق الحيوي لريبونوكليوتيد البيريميدين	5	0
تعويض النوكليوزيد و النوكليوتيد	13	10
التخليق الحيوي للسكريات المرتبطة بالنوكليوتيد وتحولاتها	6	2
الوظائف التنظيمية	64 (6.3)	7 (2.2)
التنسخ (Replication):	87 (8.6)	32 (10.0)
تدرك الدنا (DNA)	8	1
تنسخ الدنا (DNA) وتقييده وانتساخ الدنا (DNA) وتأشيبه وإصلاحه	76	31
الانتساخ (Transcription):	27 (2.7)	12 (3.8)
تدرك الرنا (RNA)	10	2
تخليق الرنا (RNA) وتحويره وانتساخ الدنا (DNA)	17	10

الدور البيولوجي	المستدمية النزلية[1]	المفطورة التناسلية[2]
الترجمة (Translation)	141 (14)	101 (31.8)
البروتينات الناقلة والرابطة:	123 (12.2)	34 (10.7)
الأحماض الأمينية والببتيدات	38	10
الأنيونات	8	3
السكريات	30	12
الكاتيونات	24	1
نواقل أخرى	22	8
أصناف أخرى	93 (9.0)	27 (8.2)
دور غير محدد:	763 (43)	152 (32)
بدون ربط معلوماتي	389	96
بروتينات افتراضية مقابلة	347	56

1- يحتوى جينوم المستدمية النزلية علي 1830137 زوج أساس، وقد يمتلك 1743 منطقة مرمزة (جينات)، منها 1007 مخصصة و 736 غير مخصصة.

2- يمتلك جينوم المفطورة التناسلية 580070 زوج أساس، وقد يكون فيه 470 منطقة مرمزة (جينات)، منها 318 مخصصة و 152 غير مخصصة. وينبغى ملاحظة أن الكثير من الجينات الجرثومية عديدة المقارين وتفتقر عموما إلى الإنترونات مما يجعل تفسير معلومات التسلسل أسهل بكثير مما هو علية الأمر في حقيقيات النوى. وقد استخدم الاستصوات (Sonication) لإنتاج شدف تمت سلسلتها. تقوم هذه العملية بتكسير الدنا (DNA) بشكل عشوائى (بخلاف إنزيمات الاقتطاع) ينتج شدفا متداخلة تستخلص المتواليات الكلية منها. ويتجنب الأسلوب المستخدم ضرورة رسم خريطة واسعة تمهيدية.

وقد أجريت العديد من المحاولات لاستعمال الجسيمات الشحمية (الليبوزومات) لإدخال الإنزيمات (أو الدنا (DNA) أو أى جزيء آخر) إلى الأعضاء الهدف، ولكن لم يكن من المنتظر الحصول من ذلك علي نتائج ناجحة فعلا. وبسبب التقدم الهائل

في ميدان تقنية الدنا (DNA) المأشوب (الفصل 42)، فقد توجهت العديد من الجهود والأفكار نحو الاستراتيجية الرابعة، أي المعالجة الجينية.

الجدول 63-12 : الأصناف الرئيسية الأربعة لاستراتيجيات معالجة الأمراض الوراثية: (1) محاولات التعامل مع النتائج الأيضية للمرض بإعطاء الناتج الناقص أو بالحد من توفر الركيزة، (2) ومحاولات استبدال البروتين أو الإنزيم الناقص أو زيادة فعاليته، (3) ومحاولات نزع زيادة المركب المختزن، (4) ومحاولات تصحيح الشذوذ الجيني الأساسي [1].

الصنف	المبدأ	المرض	العلاج أو ملاحظات
(1)	إضافة الناتج الناقص	الدراق العائلي	إعطاء الثيروكسين المياسر
	الحد من الركيزة	بيلة الفينيل كيتون	حمية فقيرة بالفينيل ألانين
(2)	استبدال الإنزيم الطافر	داء جوشيه	حقن الجليكوزيداز ـ بيتا (ألجلوسيراز Glglucerase)
	استبدال البروتين الناقص	الناعور	حقن العامل (AHG)VIII
(3)	زيادة نشاط الإنزيم الطافر بإعطاء كميات كبيرة من التميم العامل	بيلة حمض الميثيل مالونيك	حقن الڤيتامين B_{12}
	زيادة نشاط الإنزيم الطافر بالتحريض	داء كريجلر ـ نجار	إعطاء الفينوباربيتال
(4)	استبدال العضو المصاب الحامل للجين المعيب بعضو سوي	الجالاكتوزيمية[1]	زرع الكبد
	إدخال البروتين في الخلايا الجسدية بالمعالجة الجينية	العديد من الأمراض مرشحة لذلك	محاولات سريرية أجريت فعلا على الأشخاص المصابين بعوز نازعة أمين الأدينوزين، التليف الكيسي، فرط كوليسترول الدم العائلي... الخ.

1- الحمية الفقيرة بالجالاكتوز هي الخط الأول لمعالجة الأطفال المصابين بالجالاكتوزيمية المشخصة باكرا.

أظهرت المحاولات السريرية إمكانية نجاح المعالجة الجينية، إلا أنه يجب تحسين فاعليتها بشكل كبير:

من المهم أولا الأخذ بالاعتبار المعايير الأساسية الواجب توفرها للسماح باستخدام المعالجة الجينية لدى البشر (الجدول 63-13). وحاليا يسمح فقط بالمعالجة الجينية الجسدية لدى البشر لأن معالجة جين الخلية المنتشة تحمل خطورة نقل تغيرات جينية إلى الذرية.

ومن الناحية النظرية، يمكن أن تشمل المعالجة الجينية استبدال الجين أو تصحيحه أو تعزيزه. في حالة الاستبدال أو (Replacement)، ينزع الجين الطافر ويستبدل بجين سوي بدلا عنه. وفي حالة التصحيح (Correction)، تصحح المنطقة الطافرة فقط من الجين المصاب، ويترك باقي الجين على حاله. ولم يطبق أي من هاتين الطريقتين حتى الآن. وأما التعزيز (Augmentation) فيتضمن إدخال مادة جينية غريبة ضمن الخلية لتعويض الجين المعيب، وهو النمط الوحيد المستخدم حاليا. ويمكن إدخال المادة الغريبة ضمن الخلايا المصابة بأي من الطرائق المدرجة في (لجدول 63-14)، ومن أجل المعالجة الجينية لدى البشر، يدخل الجين المقصود عادة عبر ناقل ڤيروسي (Viral Vector) أو عبر معقدات من البلازميد والليبوزوم، ويجب ملاحظة أن الخلايا التي ستأخذ هذا الجين ستكون محتوية علي كل من الجين الطافر والجين خارجي المنشأ، وإذا جرى إدخال هذا الجين عبر ڤيروس قهقري (Retrovirus)، فإنه سيندمج في مواضع عشوائية علي الكروموسوم، وبذلك قد يضطرب (بالتطفير الغرزي [Insertional mutagenesis]) تعبير بعض جينات الخلية المضيفة، وهو بشكل عام غير خاضع للآليات التنظيمية الفيزيولوجية. وقد جرى تطوير العديد من الطرائق لتهديف الجينات إلى المواقع النوعية بهدف زيادة قبطها، ومن ثم فعاليتها. ومن الخلايا المستهدفة نذكر خلايا نقي العظام والأرومات الليفية (Fibroblasts) والخلايا الظهارية للسبيل التنفسي والخلايا الكبدية وخلايا ورمية مختلفة.

يجري إدخال هذه الجينات لدى البشر عبر ثلاث طرق رئيسية هي الڤيروسات القهقرية والڤيروسات الغدية (Adenoviruses) ومعقدات البلازميد والليبوزوم.

وتصمم القيروسات بحيث تكون غير قابلة للتضاعف (باستئصال الجينات المناسبة). ويجري ربط الجين المقصود (والذي يشكل جزءاً من المجموعة المعبَّر عنها والتي تحوي ـ بالإضافة إليه ـ المتواليات المنظِّمة) مع الجينوم القيروسي بواسطة إنزيمات مناسبة (الشكل 63-3). وتستطيع القيروسات القهقرية والقيروسات الغدية المستخدمة حالياً أن تستوعب غرزات تصل حتى 9 كيلو أساس و 7.5 كيلو أساس على الترتيب. وفي حالة القيروسات القهقرية، يجب أن تكون الخلايا الهدفية في حالة نمو نشط، لأن الأمر يتطلب انقسام الخلية إذا كان الهدف دمج الجين ضمن المَجين؛ ومن أجل القيروسات الغدية، لا يشكل ذلك أمراً هاماً لأن جينوم هذه القيروسات لا يندمج مع جينوم الخلية المضيفة؛ ومع ذلك، يعد هذا الأمر أحد المساوئ أيضاً، لأن التعبير عن الجين الذي جرى إدخاله يتناقص بالتدريج، وعندها يحتاج الأمر إلى معالجة إضافية بقيروس جديد يحمله.

يمكن إعطاء القيروسات المهندسة وراثياً والمحتوية على الجين المقصود المناسب خارج الحي (Ex vivo) أو في الحي (In vivo) ؛ ففي الحالة الأولى، تؤخذ الخلايا من الجسم (نقي العظام أو الكبد) وتعامل مع الناقل (Vector) في المختبر ثم يعاد إدخالها إلى الجسم بطريق مناسب. وتستعمل هذه الطريقة عادة في حالة القيروسات القهقرية. وللمعالجة في الحي، يمكن على سبيل المثال إدخال الناقل في السبيل التنفسي العلوي بالإرذاذ كما في حالة القيروس الغدي المحور المحتوي على جين CFTR الذي يعطى في داء التليف الكيسي (Cystic fibrosis).

* يجب أن يكون إنذار المرض قابلا للمعرفة بدقة وقابلا للعكس.
* يجب عزل الجين وتحديد المناطق المنظمة فيه.
* يجب تحديد الخلايا الهدفية، وينبغي توفر طرائق آمنة لإدخال الجين إليها.
* يجب توفير دليل (من الدراسات على الحيوانات والخلايا المزروعة مثلاً) على أن الجين يعمل بشكل كاف ولا يعطي تأثيرات سيئة.

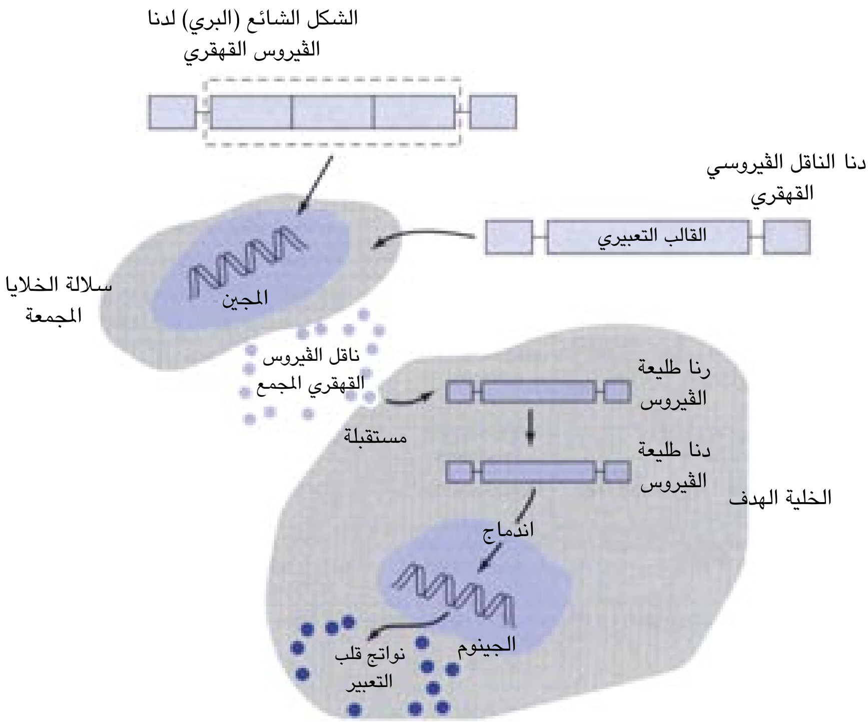
الجدول 63-13 : بعض المعايير التي يجب توفرها قبل البدء بالمعالجة الجينية.

هناك العديد من المحاولات السريرية للمعالجة الجينية تمت بالفعل أو هي في طور التطبيق. ومن الأمراض التي استخدمت فيها المعالجة الجينية عوز نازعة أمين الأدينوزين (Adenosine deaminase) (الحالة رقم 8، الفصل 65) والتليُّف الكيسي (الحالة رقم 7، الفصل 65) وفرط كولسترول الدم العائلي (الفصل 27) والعديد من أنماط السرطان. وبالنسبة للمثال الأخير، جرى العديد من المحاولات لإدخال جين واصم ضمن الخلايا لمتابعة بعض مظاهر السلوك البيولوجي للخلايا الورمية، أكثر مما هي للعلاج. كما استعمل نقل الأرومة العضلية (Myoblast) في محاولة لعلاج الحثل العضلي من نمط دوشين (Duchenne muscular dystrophy) (الحالة رقم 6، الفصل 65) .

الجدول 63-14 : بعض طرائق إدخال الجينات ضمن الخلايا في المعالجة الجينية[1] .

* الحقن داخل النواة.
* الإعداء (العبوري) (Transfection) (بفسفات الكالسيوم مثلاً).
* الإدخال الكهربي عبر المسام (باستخدام حقل كهربائي نابض).
* الڤيروسات القهقرية (المبنية خصيصاً لذلك).
* الڤيروسات الغدية (تستعمل لإدخال جين التليف الكيسي إلى داخل خلايا السبيل التنفسي).
* معقدات البلازميد والليبوزوم.
* التأشيب الموجه بالموضع (المعتمد على التأشيب المتجانس)

1- تستعمل الطرائق الثلاث الأولى فقط على الخلايا المعزولة أو المزروعة. ومعظم المحاولات السريرية التي أجريت حتى الآن استعملت نواقل ڤيروسية قهقرية أو غدية، وأما التأشيب الموجه بالموضع والمعتمد على التأشيب المتجانس فما يزال في طور التجريب، وهو يشبه من حيث المبدأ الطريقة المستعملة لإنتاج الجينات المعطلة (Knockouts) (الفصل 42) فيما عدا أنه يجري إدخال الجينات الوظيفية.



الشكل 3-63 : تصميم الناقل الفيروسي القهقري وإنتاجه ونقله. الفيروسات القهقرية هي فيروسات رنا (RNA) تتضاعف من خلال متوسط دناوي (DNA). ويستعمل في جميع النواقل الفيروسية القهقرية المعطاة للبشر فيروس ابيضاض الدم الفأري حسب مولوني (Moloney) كأساس. ويحصل خَبْن المتواليات الجينية *env*، *pol*، *gag* من الفيروس مما يجعله غير قابل للتضاعف. ويجري غرز قالب التعبير، ويحصل إنتاج الفيروس القهقري ناقص التضاعف في سلالة الخلايا المجمعة (Packaging) والتي تحوي متواليات *env*، *pol*، *gag*التي تقدم البروتينات اللازمة لحفظة الفيروس. ويدخل الناقل مع قالب التعبير إلى الخلية الهدفية عبر مستقبل نوعي. وفي العصارة الخلوية، يعمل إنزيم المنتسخة العكسية (RT) المحمول بالناقل على تحويل رنا (RNA) الناقل إلى دنا (DNA) فيروسي طليعي يندخل بشكل عشوائي ضمن جينوم الخلية الهدف، حيث يخلق قالبه التعبيري ناتجه.

لخص كريستال (Crystal) بعض النتائج التي تخص هذه المداواة الحديثة: (1) المعالجة الجينية ممكنة. وقد أشارت الدلائل إلى حصول تعبير عن الجينات المدخلة وتحسن مؤقت في الحالة السريرية في عدد من الحالات؛ (2) وقد أثبتت هذه المعالجة ـ حتى الآن ـ أنها آمنة، إلا أن الدراسات طويلة الأمد سوف تكون ذات أهمية في هذا السياق. وقد حصلت ارتكاسات تجاه هذه المعالجة، كانت إما التهابية أو ذات طبيعة مناعية، ولكن يبدو أن التفاعلات هذه كانت موجهة إلى الناقل أو إلى أحد المظاهر الأخرى لطريقة الإعطاء أكثر من توجهها نحو المادة الجينية المدخلة؛ (3) لم يشف أي مرض وراثي بهذه المعالجة؛ (4) والمشكلة الكبرى التي ظهرت هي الفعالية فمستويات التعبير عن ناتج الجين المقصود كانت غالباً إما منخفضة أو مؤقتة، ويشكل عدم استمرار النتائج مشكلةً أيضاً. وقد يؤدي ظهور نواقل جديدة أو طرق أخرى أكثر تطوراً إلى تحسين الوضع. وبالرغم من كل ذلك، تبدو الطريقةُ منطقية، وقد تحسن نوعية حياة العديد من الأشخاص المصابين باضطرابات وراثية غير قابلة للشفاء.

وقد أضيف بعد آخر لهذا المجال بعد المحاولات الأولى لتطوير المعالجة الجينية في الرحم لاضطرابات كالثلاسيمية ـ ألفا (الفصل 42) وعوز نازعة أمين الأدينوزين (انظر الفصل 65). ويمكن تحقيق ذلك بمزج خلايا دم الجنين مع ناقل ڤيروسي قهقري مناسب يحمل الجين الذي يحتاج التصحيح وإعادة نقل هذه الخلايا إلى الجنين. وهناك أسلوب آخر بحقن الناقل في الجوف الصفاقي، وهذا ما أثار الاهتمام بإمكانية وصول الناقل إلى الخلايا المنتشة. ولذلك، لابد من المزيد من الأبحاث التطورية على الحيوانات كالماشية والفئران قبل تجريب الأساليب السابقة على الأجنة البشرية.

قد تكون المعالجة المقنعة أو الثلاثية مفيدة في معالجة بعض الأمراض:

هناك اهتمام واضح بتخليق قلائل نوكليوتيد (طولها نحو 20 أساساً (قاعدة)) يمكنها (عبر ازدواج الأسس) الارتباط إلى رنا مرسال (mRNA) نوعي (مركب مقنع

(لامـعين) (Antisense) أو إلى دنا (DNA) مـضـاعف الطاق لتـشكيل جـزيء ثـلاثي (Triplex) هناك دلائل على وجود جزيئـات مقنعـة في الطبيـعـة تسـتعمل في تنظيم نشـاط بعض الجـينات). ويبـدو من الواضح أنه يجب توفـر مـعلومـات عن تسلسل الجزيئـات الهدف للتمكن من تخليق قلائل النوكليوتيد النوعـية. وينجم عن الحـالة الأولى إحـصـار ترجمـة جـزيئات الرنا المرسـال (mRNA). أمـا في الحـالة الثـانيـة فـيـتوقف انتـسـاخ الجين المقـصـود. وهناك بعض الدلائل على أن ارتبـاط قـلائل النوكليوتيد المقنعة مع جزيئات الرنا المرسـال mRNA يجعل الأخيـر أكثر عرضـة للهضم بالنوكليازات. وسنسمي كلاً من نمطي المركبات السابقة بالمركبات المقنعة أو المضـادة. ويمكن لقـلائل النوكليوتيـد هذه أن تعـمل كـعقـاقـير (أدوية جـينيـة) تثبِّط اصطناع النواتج البروتينية للجينات النوعية المسـاهمة في إحداث أمـراض عديدة، أو تثبيط الجينات نفسها. ومـازال العديد من المحـاولات السـريرية يجري على هذه المركبات؛ وكمثال على ذلك، لوحظ أن أحد قـلائل النوكليوتيد هذه يحصر تضـاعف القيروس HIV-1 بارتبـاطه مع الجين *gag* في هذا القيـروس (وهو مماثل للجين *gag* لقيـروس سـاركومة روس (Rous Sarcoma) (الفصل 62))، وبذلك يمكن أن يكون له فـائدة في مـعـالجـة الإيدز (AIDS). وقـد اخـتـبـرت مـركبـات أخرى كـعـلاجـات للاضطرابات المناعية الذاتية أو لبعض أنماط السرطان.

ظهرت بعض المشاكل عند محاولة تطوير المركبات المقنعة المفيدة سريرياً. فليس من السهل دخول العديد من قلائل النوكليوتيد إلى الخلايا، كما أنها يمكن أن تتدرك ضمن الخلايا بواسطة النوكليازات. ولحل المشكلة الأخيرة، عمد الكيميائيون إلى اصطناع قـلائل نوكليوتيد محورة، بحيث تستبدل ذرة الأكسجين المقلقلة (Critical) في كل نوكليوتيد بذرة كبريت (كبريتات فسفورية Phosporothioates). ويبدو أنـها أيضـاً ذات قدرة على الارتباط بمختلف البروتينات لتنجم آثار جانبية غير مرغوبة. والصـورة المحـيـرة لذلك أنه على الأقل، وفي بعض الحـالات، وجـد أن قـلائل النوكليوتيـد الشـاهدة (أي غيـر النوعـية لجـزيئـات الدنا (DNA) أو الرنا المرسـال الهدف) تؤدي إلى تـأثيـرات مشـابهة لتلك الملاحظة الناجمـة عن المركبـات المقنعـة (المضـادة). وهنا يبرز سؤال حول ماهية عمل هذه المركبات، هل تعمل فعلاً كجزئيات

مضادة، أم أنها تحدث استجابات أخرى؟. وبالرغم من كل هذه المشاكل، يؤمل أن تستخدم هذه الجزيئات كمعالجة دوائية في عدد من الأمراض.

يتقدم الطب الجزيئي بسرعة:

يدرج (الجدول 63-15) بعض المنجزات الهامة التي حصلت في الطب الجزيئي في العقد السابق أو نحوه فيما يتعلق بشكل خاص بفهمنا للمرض، وكلها تعتمد على ظهور طريقة الدنا (DNA) المأشوب.

* تطور كبير في رسم خريطة الجينوم البشري، مع سَلسَلَة واسعة المدى وشيكة حالياً.
* زيادة المعلومات حول جينات القوالب المتجانسة (Homeobox) والجينات الأخرى المتعلقة بالتطور والتمايز المضغي.
* تطوير الجينات المعطلة للجينات، مما يعطي نماذج حيوانية للأمراض ومعلومات حول وظيفة الجين.
* تطوير المعالجة الجينية المقنعة.
* إنتاج نواتج مشتقة بالطرق الحيوية (مثل الإريثروبوتين، t-PA) اعتماداً على تقنية الدنا المأشوب (DNA).
* تطوير طرائق عديدة معتمدة على الدنا (DNA) لتشخيص الأمراض وتقصيها.
* توضيح الأسس الجزيئية لبعض الاضطرابات المندلية الرئيسية (كالحثل العضلي من نمط دوشين والتليف الكيسي وفرط كوليسترول الدم العائلي).
* عزل الجينات الورمية والجينات الكابحة للورم والجينات المؤهبة للسرطان (مثل *BRCAI*) وافتراض نموذج نوعي لظهور سرطان المستقيم والقولون.
* بعض التبصر بالأسس الجزيئية لعدد من الأمراض العصبية المزمنة (مثل الامتدادات الثلاثية النوكليوتيد).
* اكتشاف أن طفرات الجينات المتقدرية يمكن أن تسبب المرض.

الجدول 63-15: بعض المنجزات الرئيسية الحديثة في الطب الجزيئي وما يتعلق به.

الخلاصة:

تعتمد المعالجات المنطقية لمعظم الأمراض على توضيح أسبابها الكيميائية الحيوية أو الوراثية (أو كليهما). ومع ذلك، وبالرغم من المعلومات الدقيقة حول الأسباب إلا أن معظم المعالجات المناسبة للمرض قد لا تكون ممكنة في الوقت الحاضر، مثل استعمال المعالجة الجينية في فقر الدم المنجلي. ومن وجهة النظر الكيميائية الحيوية، يجب أخذ النقاط التالية حول المرض بعين الاعتبار: (1) العديد من الأمراض لها أساس وراثي؛ (2) وجميع أصناف الجزيئات الحيوية الموجودة في الخلايا قد تتأثر بمرض أو بآخر؛ (3) وقد تحصل الاضطرابات الكيميائية الحيوية المحدثة للمرض بسرعة أو ببطء؛ (4) وقد يؤدي زيد أو عوز الجزيئات إلى إحداث المرض؛ (5) وكل عضي خلوي تقريباً يساهم في إحداث أمراض مختلفة؛ (6) وقد تؤدي آليات كيميائية حيوية مختلفة إلى إحداث موجودات سريرية متشابهة.

وهناك نحو 7000 اضطراب وراثي، أصنافها الأساسية هي الاضطرابات الكروموسومية وأحادية الجين و عديدة العوامل.

وتحصل أيضاً أمراض ناجمة عن طفرات جسدية (كالعديد من أنماط السرطان) وعن طفرات في الجينوم المتقدري. وتؤثر هذه الأمراض عادة على وظيفة الخلية بإنتاجها بروتينات طافرة. وتؤدي الإنزيمات الطافرة إلى الأخطاء الأيضية الخلقية والتي قد تكون مميتة أو غير مؤذية. وغالباً ما تكون نتائج الأخطاء الخلقية ناجمة عن تناقص في تشكل الناتج أو تراكم الركيزة أو نواتج الأيض المشتقة منها. وقد يكون الكشف المبكر مفيداً في منع حصول الأذى الدائم، وهناك اختبارات مختبرية تتوفر لتسهيل التشخيص.

عند البحث عن الجينات المؤدية إلى حصول المرض، تكون الخطوة الأولى هي التأكد من الارتباط الجيني إلى كروموسوم معين أو لمنطقة كروموسومية. وقد أحدث توفر طريقة الرفلبات (RELPs) ومواضع واصمة جديدة أخرى، مثل المتواليات الميكروساتلية، ثورة في هذا المجال. وقد نوقشت الطرائق المختلفة لعزل الجينات المسؤولة عن المرض، وهي تضم الطرائق الوظيفية وأسلوب الجين المرشح والتنسيل الموضعي والجين المرشح الموضعي. وقد قدم مشروع الجينوم البشري حتى الآن

العديد من المواضع الواصمة والتقدم التقني الذي يمكن أن يسرع في كشف أسباب معظم الأمراض الوراثية الأخرى.

لقد قدمت أهداف مشروع الجينوم البشري في الولايات المتحدة للفترة 1998-2003؛ وقد اكتملت سَلسَلة كامل الجينوم البشري خلال سنة 2003، وهناك عدد من التطورات الهامة الأخرى المرتبطة بميادين علم المَجائن وعلم الوراثة، يعد بعضها هاماً جداً للطب، يمكن أن تحدث خلال الفترة نفسها من الزمن. وقد جرت سَلسَلة الجينوم الكامل لما لا يقل عن 19 كائناً حياً، بما في ذلك الإشريكية القولونية والسكيراء الجعوية وعوامل الزهري والسل. وهناك العديد من العلاجات المتوفرة للأمراض الوراثية، بما فيها المعالجة الجينية الجسدية. ورغم أن هذه الأخيرة قد تكون آمنة وممكنة، إلا أن تطورات في التقنية الأساسية مطلوبة للوصول إلى النتائج المرجوة.

*** References:**

Brigham KL (editor);*Gene Therapy for Diseases of the lung*. Marcel Dekker,1997.

Clarke JTR: *A Clinical Guide to Inherited Metabolic Diseases*. Cambridge Univ Press,1996.

Collins FS: Sequencing the human genome. *Hosp Pract (Off Ed)* Jan 1997;32:35. (the first article in a series entitled "Molecular Genetics in Clinical Practice").

Collins FS et al: New goals for the U.S Human Genome Project: 1998-2003. *Science* 1998;282:682. (The same issue contains a number of articles on genomes.)

Crystal RG: Transfer of genes to humans. Early lessons and obstacles to success. *Science* 1995;270:404.

Deloukas P et al: A physical map of 30.000 human genes. *Science* 1998;282:744. (A World Wide Web site [www.ncbi.nlm.nih.gov/genemap] fully describes this new gene map.)

Fleischmann RD et al: Whole-genome random sequencing and assembly of Haemophilus influenzae Rd. *Science*1995;269:496.

Gelbart WM: Databases in genomic research. *Science* 1998,282:659.

Gelehrter TD et al: *principles of Medical Genetics*, 2nd ed Williams & Wlkins . 1998.

Green ED et al: The Human Genome Project and its impact on the study of human disease In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed . Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 1995. (The three volumes

of this text provide comprehensive and authoritative coverage of inherited disease.)

Lander ES, Schork NJ: Genetic dissection of complex traits. *Science* 1995;265:2037.

Seashore MR. Wappner RS: *Genetics in Primary Care and Clinical Medicine*. Appleton & Lange, 1996.

Strachan T, Read AP: *Human Molecular Genetics. Bios Scientific Publishers*, 1996. (Excellent coverage of many of the principles and procedures used in molecular genetics and genomics.)

Venter JC et al: Shotgun sequencing of the human genome. *Science* 1998;280:1540.

Wickstrom E (editor): *Clinical Trials of Genetic Therapy With Antisense DNA and DNA Vectors*. Marcel Dekker 1998.

Wittung-Stafshede P: Genetic medicine: When Will it come to the drugstore? *Science* 1998, 281:657.

الفصل الرابع والستون

الأساس الكيميائي الحيوي لبعض الاضطرابات العصبية والنفسية

The Biochemical Basis of Some Neuropsychiatric Disorders

مقدمة:

لن يغطي هذا الفصل بشكل منهجي بعض المواضيع مثل آليات النقل العصبية وخصائص كل من النواقل العصبية والمشابك أو تفاصيل عن القنوات الأيونية في الدماغ، فهذه المواضيع قد درست جيداً في الكثير من كتب الفيزيولوجية العصبية والبيولوجيا العصبية والبيولوجيا الجزيئية وعلم الأدوية العصبية (أدرج بعض منها في المراجع بنهاية هذا الفصل). وسنفترض أن القارئ يمتلك درجة من التآلف مع المفاهيم الأساسية للفيزيولوجية العصبية والتشريح العصبي.

وبالمقابل، سوف نناقش ثمانية اضطرابات عصبية نفسية (أو مجموعات من الاضطرابات) مع توضيح الأساليب الكيميائية الحيوية المعاصرة والبيولوجية الخلوية والوراثية، والأوجه المستقبلية للمعالجات الحديثة في بعض الحالات. والاضطرابات هى الوهن العضلي الوبيل وداء هنتنجتون والسكتات والأمراض الناجمة عن طفرات في الدنا المتقدري (mtDNA) ومتلازمة الكروموسوم X الهش واضطرابات أخرى ناجمة عن التكرارات الثلاثية وداء باركسنون وداء ألزهايمر (الخرف الشيوخي) والفصام. وبعض هذه الاضطرابات شائعة وبعضها الآخر أقل شيوعاً، لكن جميعها تبدي وجهات نظر وتطلعات مهمة.

الأهمية الطبية البيولوجية:

إن التحديين الرئيسيين في البيولوجيا المعاصرة هما تعيين الآليات المساهمة في التطور والتمايز وحل آليات عمل الجملة العصبية. وتلعب التقنيات التي أتاحتها تكنولوجيا الدنا (DNA) المأشوب دوراً رئيسياً في كلا المجالين. وتعد الاضطرابات العصبية النفسية مهمة إكلينيكياً، لأنها غالباً ما تكون مزمنة (مثل الفصام) ومخربة (مثل السكتات وداء هنتنجتون وداء ألزهايمر (الخرف الشيخوخي) والفصام) كما يمكن أن تخرب الوظائف الفكرية. ولم تقدم لنا الأبحاث في العلوم العصبية فهماً عميقاً لطبيعتنا الذاتية فحسب، بل وفرت أيضاً الأسس المنطقية للمعالجة الفعالة للعديد من الحالات المسببة للعجز.

واستنادا إلى المؤسسة الوطنية لأبحاث الدماغ (في الولايات المتحدة الأمريكية)، فإن التكاليف المباشرة للأمراض النفسية والعصبية والإسراف في استهلاك معاقرة الكحول والمخدرات تتجاوز 400 بليون دولار سنوياً. كما تتجاوز تكاليف اضطراب واحد كالخرف (Dementia) (الذي يمثل داء ألزهايمر [الخرف الشيخوخي] أهم الأمثلة عنه) تكاليف السرطان والداء القلبي التاجي. وبلغت التكاليف المباشرة نحو سبع تكاليف الرعاية الصحية الإجمالية في الولايات المتحدة عام 1991. وتبين أن التكاليف غير المباشرة (مثل الأجور المهدورة) قد تجاوزت التكاليف المباشرة.

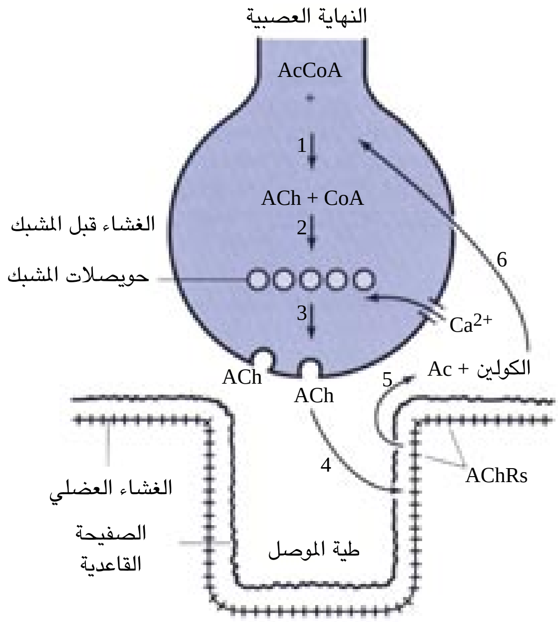
لكي نفهم الوهن العضلي الوبيل، لابد من فهم الأحداث الجارية على مستوى الموصل العصبي العضلي:

يتصف الوهن العضلي الوبيل (Myasthenia gravis) بأعراض متكررة من الضعف العضلي وسرعة التعب؛ وتكون العضلات المعصبة بالأعصاب القحفية هي الأكثر تأثراً. ويتحسن الاضطراب بإعطاء الأدوية التي تثبط إسترار الأسيتيل كولين (انظر لاحقاً)، وهي حقيقة تستخدم في التشخيص وفي العلاج أيضاً. ويقوم الجسم في الوهن العضلي الوبيل، لأسباب غير واضحة، بتشكيل أضداد ذاتية تجاه مستقبل الأسيتيل كولين (AChR) في الموصل العصبي العضلي (Neuromuscular Junction)؛ وتسبب هذه الأضداد تخريب المستقبلات، وتؤدي إلى

تناقص عددها بوضوح. وبذلك، لابد من معرفة الحقائق الأساسية المتعلقة بالنقل العصبي العضلي حتى نفهم هذا الاضطراب.

يبين (الشكل 64-1) مخططاً للموصل العصبي العضلي ولبعض الأحداث التي تجري هناك. ويتألف الموصل من نهاية عصبية وحيدة منفصلة عن المنطقة بعد المشبك بالفلح المشبكي. وتعد اللويحة الانتهائية المحركة جزءاً متخصصاً من الغشاء العضلي المساهم في الموصل. وتكون الطيات الموصلية بارزة، وهي تحوي كثافة عالية من مستقبلات الأسيتيل كولين قريباً جداً من النهاية العصبية.

يمكن اعتبار العملية الكلية عند الموصل بأنها تحدث في ست خطوات (مشار إليها بأرقام في الشكل 64-1).



الشكل 64-1 : تمثيل تخطيطي لبعض الأحداث الجارية عند الموصل العصبي العضلي. يظهر جزء من النهاية العصبية متوضعاً بشكل متراكب مع اللويحة الانتهائية العضلية. ويمكن تصور العملية الكلية، التي ينبه الأسيتيل كولين مستقبله من خلالها، بأنها تجري في 6 خطوات (انظر النص).

(1) يحدث تخليق الأسيتيل كولين في العصارة الخلوية للنهاية العصبية بوساطة إنزيم ناقلة أسيتيل الكولين الذي يحفز التفاعل التالي:

أسيتيل التميم A + كولين ⟵ الأسيتيل كولين + التميم A

(2) ينجبل الأسيتيل كولين بعد ذلك مع جزيئات صغيرة مرتبطة بالغشاء تدعى الحويصلات المشبكية (Synaptic vesicles) ويخزن هناك؛ ويماثل تجميع الحويصلات المشبكية تلك الأحداث الموصوفة بالنسبة إلى تجميع حويصلات النقل (الفصل 43)، بما في ذلك SNAREs وغيرها.

(3) الخطوة التالية هي تحرير الأسيتيل كولين من هذه الحويصلات إلى الفلح المشبكي؛ ويحدث ذلك بالإيماس (Exocytsois) الذي يتضمن اندماج الحويصلات مع الأغشية قبل المشبك. وفي حالة الراحة، تتحرر كمية وحيدة (نحو 10,000 جزيء من الناقل، بما يتوافق على الأرجح مع محتويات حويصل مشبكي واحد) تلقائياً، مما يؤدي إلى ظهور كمونات صغيرة في اللويحة الانتهائية. وعندما يزول استقطاب النهاية العصبية بواسطة دفعة عصبية، تفتح هذه العملية قنوات أيونات الكالسيوم الحساسة للڤولطاج مما يسمح بتدفق أيونات الكالسيوم من الحيز المشبكي إلى النهاية العصبية. وتلعب أيونات الكالسيوم هذه دوراً أساسياً في الإيماس الذي يحرر الأسيتيل كولين (محتويات نحو 200 حويصلة تقريباً) إلى الحيز المشبكي.

(4) ينتشر الأسيتيل كولين المتحرر بسرعة عبر الفلح المشبكي إلى مستقبلاته في الطيات الموصلية. وعندما يرتبط جزيئان من الأسيتيل كولين بالمستقبل يتغير تهايؤه مما يسبب فتح قناة فيه تسمح بتدفق الكاتيونات عبر الغشاء. ويؤدي الدخول اللاحق لأيونات الصوديوم Na^+ إلى زوال استقطاب الغشاء العضلي، مشكلاً بذلك كمون اللويحة الانتهائية. وهذا يؤدي بدوره إلى إزالة استقطاب الغشاء العضلي المجاور وتتولد كمونات الفعل وتنتقل على طول الليف مما يؤدي إلى حدوث التقلص (الفصل 58).

(5) وعندما تنغلق القناة، يتفارق الأسيتيل كولين ويَتَحَلْمه بإنزيم إستراز الأسيتيل كولين الذي يحفز التفاعل التالي:

ماء + أسيتيل كولين ⟵ أسيتات + كولين

ويوجد هذا الإنزيم المهم بمقادير مرتفعة في الصفيحة القاعدية للحيز المشبكي.

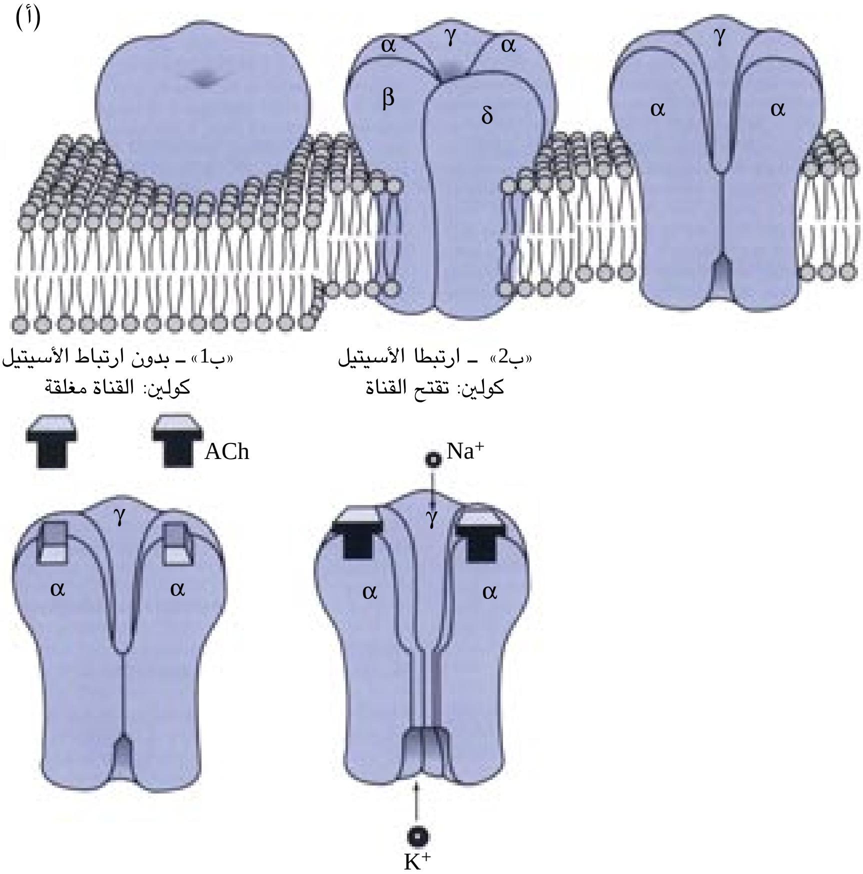
(6) ويعود الكولين إلى النهاية العصبية بآلية نقل فاعلة ليدخل دورة عمل جديدة حيث يمكن استخدامه ثانية لتخليق الأسيتيل كولين.

يعد مستقبل الأسيتيل كولين في الموصل العصبي العضلي قناة أيونية مبوبة بالناقل:

لقد درس مستقبل الأسيتيل كولين في الموصل العصبي العضلي دراسة موسعة بسبب دوره الرئيسي في النقل العصبي العضلي. ويدرج (الجدول 64-1) بعض الخصائص المهمة لهذا المستقبل. وهو بروتين سكري غشائي مؤلف من 5 وحيدات، اثنتان منها متماثلة (ألفا). وقد تم تنسيل جزيئات من الدنا المتمم (cDNA) لمختلف الوحيدات والتعرف على تسلسلات الأحماض الأمينية لكل منها.

وقد برهنت الحقيقة القائلة بأن البنجاروتوكسين ـ ألفا (α-bungarotoxin) ـ يرتبط ارتباطاً قوياً بالبروتين على فائدتها في عدد من الدراسات كقياس عدد المستقبلات في عينات من العضل السوي والشاذ (انظر لاحقاً).

يوضح (الشكل 64-2) توضع البروتين في غشائه. وكما هو مبين، تجتاز الوحيدات الخمس الغشاء وتساهم في قناة الأيونات. وتغلق القناة بغياب الأسيتيل كولين. وعندما يرتبط جزيئان من الناقل بالمستقبل، واحد لكل وحيدة ألفا، يخضع البروتين لتغير في هيئته الفراغية يقود إلى فتح قناة الأيونات عدة 1 مللي ثانية تقريباً. وخلال هذا الوقت يدخل الصوديوم Na^+ ويخرج البوتاسيوم K^+. وكما هو مذكور سابقاً، يؤدي دخول Na^+ إلى زوال استقطاب الغشاء العضلي فيتولد كمون اللويحة الانتهائية. ولأن وجود أو غياب الأسيتيل كولين نفسه يؤدي إلى فتح القناة وإغلاقها فقد تسمى مستقبلة الأسيتيل كولين باسم قناة أيونية «مبوبة بالناقل» (خلافاً للنمطين الآخرين من القنوات المبوبة: وهما المبوبة بالڤولطاج والمبوبة آلياً) (انظر الفصلان 43 و 58).



الشكل 2-64 : بنية مستقبل الأسيتيل كولين (Ach) في الموصل العصبي العضلي.
«أ»: نموذج ثلاثي الأبعاد للقناة الأيونية النيكوتينية المنشطة بالأسيتيل كولين بحسب تصور كارلين (Karlin) ومساعديه. ويتألف معقد المستقبلة ـ القناة من عدة وحيدات؛ ويرتبط جزيء واحد من الأسيتيل كولين بكل وحيدة ألفا قبل فتح القناة؛ وتسهم كافة الوحيدات في المسم. «ب 1» و «ب2»: عندما يرتبط جزيئان من الأسيتيل كولين بأجزاء من الوحيدات ألفا المعرضة لسطح الغشاء تتغير هيئة المستقبل القناة مما يفتح مساماً في أجزاء المستقبلة المستقر في الطبقة الشحمية المضاعفة. وتتدفق Na^+ و K^+ معاً عبر القناة المفتوحة باتجاه مدروجهما الكهربي الكيميائي.

الجدول 1-64 : بعض خصائص مستقبل الأسيتيل كولين في الموصل العصبي العضلي.

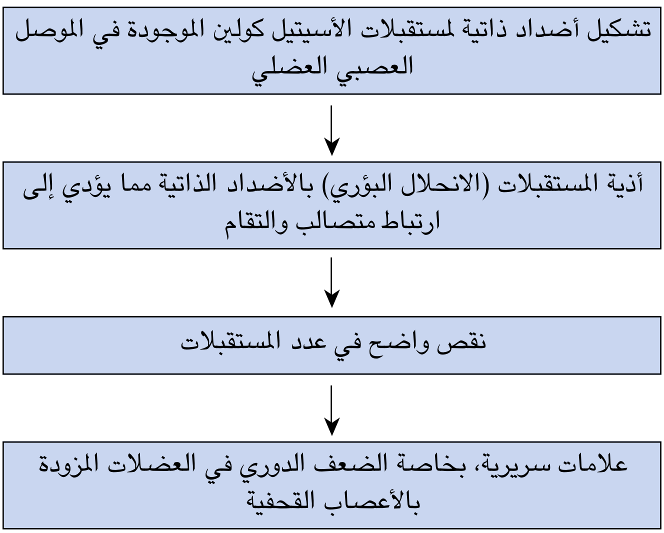
* هو مستقبل نيكوتيني (أي يكون النيكوتين هو الضادة أو المناهض للمستقبلة).
* هو بروتين سكري غشائي كتلته الجزيئية نحو 275 ك. دالتون.
* يحوي خمس وحيدات تتكون من 2:1 ألفا وواحدة من كل من بيتا وجاما وإبيلسون.
* ترتبط الوحيدة ألفا فقط بالأسيتيل كولين بألفة عالية.
* يجب أن يرتبط جزيئان من الأسيتيل كولين لفتح قناة الأيونات، والتي تسمح بجريان كل من K^+ و Na^+؛ وبذلك يكون المستقبل قناة أيونات مبوبة بالناقل.
* يرتبط سم الأفعى ـ بنجاروتوكسين ارتباطاً قوياً بالوحيدة ألفا، ويمكن استخدامه لوسم المستقبل أو كلجين (ربيطة) ذات ألفة لتنقيتها.
* إن الأضداد الذاتية للمستقبل متورطة في إحداث الوهن العضلي الوبيل.

1 – إن تركيب الوحيدات المذكور هو تركيب الإنزيم الجنيني. أما عند البالغ فتستبدل السلسلة γ المفردة بالسلسة ε. ويوجد جين مختلف لكل نمط من الوحيدات.

تقوم الأضداد الذاتية في الوهن العضلي الوبيل بأذية مستقبلات الأسيتيل كولين وإنقاص أعدادها:

تشير الدراسات الفيزيولوجية الكهربائية (مثل تخطيط كهربائية العضل) إلى أن الشذوذ في الوهن العضلي الوبيل يحدث عند اللويحة الانتهائية المحركة، وليس عند الغشاء قبل المشبك. وفي الحقيقة، يبدو أن كميات سوية من الأسيتيل كولين تتحرر في هذه الحالة؛ وتبين بالمقابل أن استعمال البنجاروتوكسين الموسوم إشعاعياً لقياس عدد مستقبلات الأسيتيل كولين في نماذج من العضلات يظهر تناقصها بشكل واضح لدى المصابين بالوهن العضلي الوبيل. وتقترح الموجودات العديدة المختلفة بأن اضطراباً في الجملة المناعية مكتنف في إمراضية الوهن العضلي الوبيل؛ فمن الملاحظ ـ على سبيل المثال ـ تكرار حدوث فرط التنسج التوتي واللمفاوي، كما أن الأورام التوتية ليست نادرة الحدوث. ويكون لدى كافة المرضى تقريباً بعض الأمراض الأخرى المنيعة للذات. ومن المعطيات الموضحة لذلك أن حقن

مستقبلة نقية للأسيتيل كولين (مأخوذة من العضو الكهربائي للأنقليس (Eels) الكهربائي) في الأرنب قد أدى إلى توليد أضداد للمستقبلة في الدوران وإلى ظهور مرض مماثل للوهن العضلي الوبيل. ونتيجة لذلك، تبين أنه يمكن توليد أضداد ذاتية للمستقبلة عند الأفراد المصابين بالوهن العضلي، وأنها توجد لدى كل المصابين تقريباً بهذا الداء الوبيل. وترتبط الأضداد الذاتية بمستقبلات الأسيتيل كولين في الموصل العصبي العضلي وتمنع وصول الأسيتيل كولين إليها، وتؤذيها مما يؤدي إلى ما يدعى بالانحلال البؤري (الشكل 64-3). وتكون المستقبلات عرضة للالتقام الذي يسرع تقلبها وينقص عددها. وتلعب بروتينات الجملة المتممة (الفصل 59) دوراً مهماً في هذا النمط من الأذية الخلوية. ولم يفسر بعد بشكل كاف سبب إنتاج الأضداد الذاتية في المكان الأول.



الشكل 64-3 : مخطط حدوث الوهن العضلي الوبيل. لم يجر بعد التحقق من سبب التشكل الأولي للأضداد الذاتية الموجهة ضد المستقبلات.

تزيد مثبطات الكولين إستراز كمية الأسيتيل كولين عند الموصل العضلي العصبي، وهذا يعطي إمكانية معالجة الوهن العضلي الوبيل:

ترفع الأدوية التي تثبط الأسيتيل كولين إستيراز، وهو الإنزيم المساهم في تدرّك الأسيتيل كولين، تركيز الناقل العصبي بشكل فعال عند اللويحة الانتهائية المحركة وتطيل تأثيره. وتكون هذه العوامل حجر الأساس في معالجة الوهن العضلي الوبيل. وهناك نمطان من مثبطات الكولين إستراز: عكوسة ولاعكوسة. وتكون كل من المثبطات العكوسة ذات الفعل القصير وذات الفعل الطويل نسبياً مفيدة في الوهن العضلي الوبيل. وقد وجدت الزمرة الأولى تطبيقاً واسعاً لها في التشخيص. ويُتَوقع التشخيص بالاعتماد على مشاركة القصة والمعطيات الإكلينيكية وبعض الاختبارات المختبرية (مثل تخطيط كهربائية العضلات وقياس الأضداد الذاتية في الدوران). ويقوم الاختبار التشخيصي للوهن العضلي الوبيل على إعطاء جرعة مناسبة من عامل قصير التأثير هو الإيدروفونيوم (Edrophoniom) (التنسيلون)؛ فإذا كان لدى المريض وهن عضلي وبيل فإن هذه المناورة قد تؤدي إلى تحسن سريع لكنه قصير في القوة العضلية. ويكون كل من البيريدوستجمين والنيوستجمين من العوامل الفعالة ذات التأثير المديد والاستخدام الواسع في معالجة الوهن العضلي الوبيل. ويعد ثنائي إيزوبروبيل فلورو فسفات (DFP) مثالاً عن المثبطات اللاعكسية للكولين إستراز؛ حيث يرتبط هذا الدواء بشكل تساهمي مع ثمالة السيرين في المركز الفعال من الأسيتيل كولين إستراز (انظر مناقشة إنزيمات بروتياز السيرين في الفصل 10). ويعد DFP «غازاً عصبياً ساماً»، وقد استخدم أيضاً كمبيد حشري.

قد يلزم أيضاً كبت الاستجابة المناعية الشاذة المساهمة في الوهن العضلي الوبيل. وتتضمن الإجراءات المستخدمة كل من الستيرويدات القشرية أو كابتات المناعة الأكثر قوة (كالأزاثيوبرين) واستئصال التوتة وفصادة البلازما.

ينتقل داء هنتنجتون وراثياً:

يتصف داء هنتنجتون (Huntington Disease) أو رَقَص هنتنجتون بحركات لا إرادية قصيرة (الرَقَص) وتلف يتقدم تدريجياً في الوظائف العصبية العليا. يبدأ عادة بين 35 و 50 سنة من العمر ويتطور بشكل مستمر ويبلغ متوسط العمر نحو 15 سنة من تاريخ البدء. ويُورَّث المرض بشكل جسدي سائد مع نفاذ كامل، ويكون 50٪ من أطفال الوالد المتأثر تحت خطر الإصابة.

إن عصبونات الجسم المخطط (النواة المذنبة والأتبة) هي الأكثر تأثراً بداء هنتنجتون. ويموت الكثير من هذه العُصبونات وتستبدل جزئياً بالخلايا الدبقية. ويؤثر الموت الخلوي هذا في بعض الأنماط الفرعية للعصبونات أكثر من غيرها؛ وتميل العُصبونات البينية إلى عدم التأثر بالمرض. ويلاحظ نقص في مستويات بعض النواقل العصبية (مثل حمض جاما أمينوبوتيريك [GABA] والأسيتيل كولين)، وفي بعض الإنزيمات المساهمة في تخليقها (مثل نازعة كربوكسيل الجلوتاميك وناقلة أسيتيل الكولين)، وفي بعض الببتيدات العصبية (مثل المادة P والكُوليْسيسْتوكينين والميتينكيفالين) وفي بعض المستقبلات (مثل مستقبلات الدوبامين والأسيتيل كولين والسيروتونين). كما يظهر نقص في مستويات عناصر أخرى لمعظم هذه الصفوف الأربعة من الجزيئات، مثل الدوبامين والنورإيبينيفرين والسوماتوستاتين والنيوروتنسين. وقد تكون هذه التغيرات المختلفة ثانوية مما يعكس وجود الأذية الخلوية والموت الخلوي الناتج عن الآفات الوراثية، لكن تكون هذه التغيرات مهمة من حيث كونها تقدم الأساس الكيميائي العصبي للعلامات التي يبديها المرضى.

عزل الجين المسؤول عن داء هنتنجتون، وتبين أن الطفرة المتورطة هي التوسع في تكرار النوكليوتيدات الثلاثية:

في عام 1983، وصف جوزيلا (Gusella) ومساعدوه حدوث تعدد أشكال أطوال الشُّدف المقتطعة (RFLP) على الكروموسوم 4 الذي كان على علاقة وثيقة بالجين المسؤول عن داء هنتنجتون. وقد كان هذا الوصف واحداً من الدراسات الأولى على استعمال الرفلبات (RFLPs) في دراسات الارتباط وأعطت النتيجة الناجحة دفعاً

كبيراً لهذا النمط من الجهد. وقد ضمت المجموعات المدروسة عائلة كبيرة جداً (نحو 5000 شخص) حول بحيرة ماراكايبو في ڤنزويلا، حيث كان يعاني معظم هؤلاء الأفراد من داء هنتنجتون. وقد أعطى حجم العائلة شجرة نسب ممتازة للتحليل. وكان الموضع المكتشف قريباً جداً من نهاية الذراع القصير للكروموسوم 4، وعلى الرغم من هذه البداية الواعدة، فقد ظهرت صعوبات مختلفة في تحديد الموضع الدقيق للجين وانقضت عشر سنوات أخرى قبل عزله وتحديد تتابعه. ويدرج (الجدول 64-2) بعض الموجودات الرئيسية فيما يتعلق بالجين وناتجه. وتبين أن الطفرة المساهمة هي توسع في تكرار النوكليوتيد الثلاثي CAG (الذي يرمز للجلوتامين).

* يتوضع قرب ذروة الكروموسوم 4 (4p 16.3) بجوار القسيم الطرفي.
* يبلغ طوله نحو 210 كيلو أساس.
* يرمز المُنتسخات التي يعبر عنها بشكل واسع داخل الجملة العصبية المركزية وخارجها.
* يرمز ناتجاً (الهنتنجتين) ذا وظيفة غير واضحة وكتلته الجزيئية 348 ك. دالتون.
* تتوضع تكرارات CAG المرمزة للجلوتامين ضمن منطقة افتراضية مُرَمِّزة للبروتين.
* تعد طفرة الجين مثالاً عن توسع تكرار النوكليوتيد الثلاثي.
* تحوي الجينات المأخوذة من الأشخاص الأسوياء 10-30 تكراراً للـ CAG، والجينات المأخوذة من المصابين بداء هنتنجتون 38-120 تكراراً
* يبدو أن زيادة طول توسع تكرار النوكليوتيد الثلاثي ترتبط بالبدء المبكر للمرض وشدته.
* يمكن أن تشتمل الطفرة اكتساب وظيفة سمية مع أن هذا لم يثبت بعد؛ وربما يسهم تطاول عديد الجلوتامين في الارتباط التصالبي مع بروتينات أخرى.
* يُسَهِّل عزل الجين التشخيص الدقيق (بواسطة PCR مثلاً)، لكن لا يوضح الآليات الباثولوجية

الجدول 64-2 : بعض خصائص الجين *HD/ITI5* عن داء هنتنجتون.

وقد ذكرت توسعات التكرار في النوكليوتيد الثلاثي (الثلاثية) أول مرة في عام 1991 حيث وجد أنها هي أساس متلازمة الكروموسوم X الهش (انظر لاحقاً). وقد ذكر لاحقاً أنه يسهم في بضعة أمراض عصبية تنكسية مزمنة أخرى (انظر فيما بعد) قبل اكتشاف الجين. ويرمز الجين بروتيناً واسع التّوزع (الهنتنجتين Huntingtin) بوزن جزيئي يبلغ 348 ك. دالتون تقريباً ولم تحدد وظيفته بعد. ولكن يبدو أنه ضروري للتطور السوي، وله على الأرجح وظائف مهمة في بعض المناطق من الدماغ. وعندما يوجد بشكل طافر فهو يحدد المرضيات العصبية الملاحظة في المرض. ويعتمد طول الذيل عديد الجلوتامين في الهنتنجتين على حجم توسع الثلاثية الذي يختلف بالعدد من 10 إلى 30 عند الأفراد الأسوياء ومن 38 إلى 120عند الأفراد المصابين. ويسهم كل من فقدان وظيفة الهنتنجتين وزيادة سمية الذيل عديد الجلوتامين على الأغلب في المرض؛ ويبدو أن زيادة طول التوسع عديد الجلوتامين متعلقة بزيادة السمية (انظر لاحقاً).

لقد جعلت الموجودات السابقة إخبار أفراد العائلات المصابة ممكنة ـ إذا كانوا يرغبون في ذلك ـ فيما إذا كانوا سيصابون بهذه الحالة (الاختبار قبل ظهور الأعراض) أم لا، وطرحت إمكانية التشخيص قبل الولادة باستعمال مسابير دنا (DNA) مناسبة. ولا توجد في الوقت الحاضر معالجة نوعية لداء هنتنجتون؛ وكل ما يمكن تقديمه هو الاستشارة الوراثية والدعم النفسي ومعالجة الأعراض.

يمكن أن يساهم الموت الخلوي المبرمج والنكدس البروتيني والسموم الاستثارية في موت الخلايا في داء هنتنجتون:

يتميز داء هنتنجتون بموت بعض العَصبونات (انظر سابقاً). والذى يصعب التأكد من كيفية حدوثه مالم يعرف وظيفة ـ (إنزيم، مستقبلة...إلخ) الهنتنجتين. إلا أنه أمكن التعرف على ثلاثة عوامل على الأقل تساهم في ذلك على الأغلب: الموت الخلوي المبرمج (الاستماتة: Apoptosis) وتكدس البروتينات داخل الخلية والسموم الاستثارية (Excitotxins) السموم المثيرة للأعصاب).

إن الموت الخلوي المبرمج هو برنامج ينشأ من داخل الخلية خلافاً للنخر الذي ينجم عن عوامل خارجية مثل نقص الأكسجة (كمسبب لاحتشاء عضلة القلب) والسموم (مثل تلك المسببة للنخر الكبدي). ويكون الموت الخلوي المبرمج منظماً بشكل صارم بالضرورة؛ وهو يلعب أدواراً هامة في العمليات الفيزيولوجية كتكون المضغة وإعادة بناء الانسجة. وقد قادت الدراسة المكثفة للموت الخلوي المبرمج إلى تحديد الكثير من مكوناته وعلى راسها المستقبلات التي تنشط السبيل (مثل مستقبل Fas وعامل النخر الورمي في بعض الخلايا) وفصيلة من إنزيمات بروتياز السيستيين (إنزيمات الكاسبازات Caspases). وتتضمن المكونات الأخرى كلا من p53 (انظر الفصل 62) وعدد من المثبطات (مثل البروتين Bcl-2) والنواهض (مثل البروتين باكس (Bax) وتضم التغيرات الشكلية تجعد الغشاء الخلوي وتكدس الكروماتين في النواة. ويقوم إنزيم أو أكثر من إنزيمات النوكلياز الداخلية بتدريك الدنا (DNA) ويكون هذا دليلاً على الرحلان الكهربائي كتدرج مميز لشُدف الدنا (DNA) المنفصلة. وينشطر الهنتنجتين بواحد من إنزيمات الكاسبازات المساهمة في الموت الخلوي المبرمج. وكلما طال توسع عديد الجلوتامين زاد معدل الانشطار. لذلك فقد اقترح أن داء هنتنجتون هو اضطراب ناجم عن موت خلوي مبرمج غير ملائم مع أن الأسلوب الدقيق الذي يضطرب به الموت الخلوي المبرمج ما يزال بحاجة إلى توضيح.

إن موضع الخلاف الكبير فيما يتعلق بداء هنتنجتون هو ما إذا كان بروتين الهنتنجتين يكتسب وظيفة سمية عن طريق توسع متعدد الجلوتامين. ويبدو أن مثل هذا التوسع قد يؤدي إلى تشكيل كداسات كبيرة داخل الخلايا من البروتين، والتي تؤدي إلى خلل ببنية العصبون ووظيفته السويتين. ويمكن أن تصبح هذه الكداسات مرتبطة ارتباطاً تساهمياً من خلال فعل ناقلة الجلوتامين (قارن مع آلية عمل العامل XIII في تخثر الدم، الفصل 59). وقد وجد أن الهنتنجتين يتآثر مع نازعة هيدروجين الجليسرالدهيد ـ 3 ـ فسفات؛ ويمكن أن يؤثر ذلك في تحلل السكر وإنتاج الطاقة وبالتالي في أيض الدماغ. وهناك سؤال أساسي يتعلق بالتغيرات المرضية المشاهدة في الأمراض العصبية التنكسية المزمنة، وهو يتعلق بالعامل المسؤول عن الاستعداد الانتقائي للإصابة (أية أذية عصبونات نوعية وليس خلايا أخرى). وتبين في هذا

الشأن أن الهنتنجتين يتآثر أيضاً مع بروتين مرتبط بالهنتنجتين يتوضع في مناطق من الدماغ تتأثر بشكل خاص في داء هنتنجتون. ويمكن أن تزيد الكداسات الناشئة قابلية بعض العَصبونات للموت بعد التعرض للمنبهات التي تسبب الموت الخلوي المبرمج. وفي الحقيقة، يبدو أن تراكم الكداسات البروتينية داخل الخلية أمر مهم في إمراضية عدد من الأمراض العصبية التنكسية المزمنة كداء ألزهايمر (انظر فيما بعد). ومع تزايد المعرفة حول التآثرات البروتينية المساهمة، أصبح من الممكن معرفة الأدوية النوعية التي تثبط مثل هذه التآثرات.

هناك فرضية ثالثة فيما يتعلق بالموت الخلوي في داء هنتنجتون ومفادها أنه ينجم عن مواد كيميائية معينة (السموم الاستثارية أو المثيرة للأعصاب) خارجية المنشأ أو داخلية المنشأ (النواتج السوية للأيض). ولابد من الإلمام قليلاً بمستقبلات الجلوتامات لفهم هذا المفهوم بشكل جيد.

إن الجلوتامات والأسبارتات من الأحماض الأمينية المثيرة (المهيجة) في الدماغ، وقد تكون الجلوتامات مسؤولة عن نحو 72٪ من النقل العصبي الاستثاري في الدماغ. وباستعمال نواهض ومناهضات انتقائية يمكن تقسيم مستقبلات الجلوتامات إلى خمسة صفوف: (1) NMDA (N – ميثيل D– أسبارتات)؛ (2) و AMPA (ألفا – أمينو – 3 – هيدروكسي – 5 – ميثيل –4 – إيزوكسازول حمض البروبيون)، وكانت تدعى سابقاً مستقبلات الكويسكالات؛ (3) والكاينات (Kainate) (مركب يعزل من الطحالب البحرية)؛ (4) و $L\text{-}AP_4$ (ناهضة تركيبية)؛ (5) ومستقبلات التوجه الأيضي. والمستقبلات الأربع الأولى هي قنوات للكاتيونات، في حين ترتبط مستقبلات التوجه الأيضي بإنتاج ثنائي أسيل الجليسيرول وثلاثي فسفات الإينوزيتول داخل الخلية بوساطة سبيل الإينوزيتيد عديد الفسفات (الفصل 44).

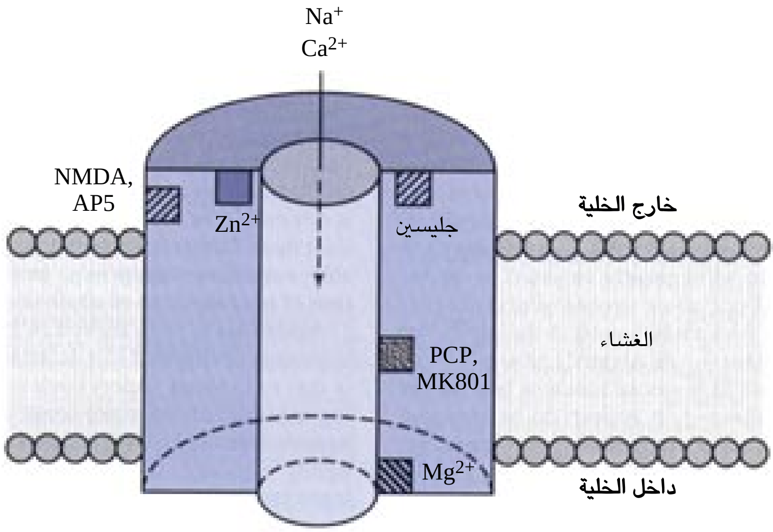
المثير في الأمر أن حقن الكاينات في الجسم المخطط لدى الجرذان قد تسبب بموت العُصبونات لكنه حافظ على الخلايا الدبقية والمحاوير. وتعمل هذه المادة من خلال التسبب بتحرير فائض الجلوتامات. ويمكن في الواقع أن يؤدي حقن العُصبونات بتراكيز منخفضة نسبياً من الجلوتامات إلى موت الخلية، والذي يعتمد

على وجــود Ca^{2+} في الوسط. كــمــا أن حــقن الكينولينات، وهو ناتج عن أيض التريبتوفان ينبه المستقبلة NMDA، يؤدي إلى موت العَصبونات لكنه يحافظ على العصبونات البينية، تماماً مثلما يحدث في داء هنتنجتون، لذلك تدعى هذه المركبات باسم «السموم المثيرة». وقد يسهم المستقبل بشكل خاص في أذية الخلايا وموتها الملاحظين في داء هنتنجتون مع أن التسلسل الدقيق للأحداث لم يحدد هوية الناتج الجيني. ويعد المستقبل NMDA (الشكل 64-4) معقداً يحوي خمسة مقرات منفصلة على الأقل (مقر يربط ناقل الجلوتامات، ومقر تنظيمي يربط الجليسين، ومقر معتمد على الفولطاج يربط المغنيزيوم (Mg^{2+})، ومقر يربط الفنسيكليدين، ومقر يربط Zn^{2+}) وهو ينفتح عندما يُشْغَل بناهضة، مثل الجلوتامات، فيسمح بدخول Ca^{2+} و Na^{+} إلى الخلية. وإذا جرى تنبيه المستقبلة NMDA بشكل مزمن (بوساطة فائض الجلوتامات المفرز من العَصبونات نتيجة زوال استقطاب أغشيتها الأيضية مثلاً)، فإن ذلك يسمح بتراكم Ca^{2+} الذي يكون ساماً للخلايا عندما يوجد بتراكيز مرتفعة، وقد يؤدي إلى الموت الخلوي (بآليات مماثلة لتلك الموصوفة بالنسبة إلى احتشاء العضلة القلبية) (انظر الحالة رقم 4 في الفصل 65). بالإضافة إلى أن دخول Ca^{2+} يترافق بدخول Na^{+} مما يسبب حدوث تورم تناضحي وأذية الخلايا. وقد يكون لهذه الموجودات مضامين علاجية، لأنه قد يكون ممكناً تثبيط المستقبلات NMDA جزئياً باستعمال بعض الأدوية، مثل الدكستروميثورفان، وبذلك تتناقص أعداد الخلايا الميتة.

يعد المستقبلة NMDA مهماً فى مجالات أخرى أيضاً. ويعتقد أنه يلعب دوراً مركزياً في التفعيل المديد الذي يؤدي إلى زيادة الفاعلية المشبكية في الحصين والمناطق الأخرى، وقد يساهم في الذاكرة والتعليم. كما يتدخل تنشيط هذا المستقبل في بداية النوبات الاختلاجية؛ بالإضافة إلى أن النوبات الصرعية المتكررة قد تؤدي إلى موت العَصبونات أيضاً ربما بسبب السموم المثيرة.

إن الأحداث الدقيقة المساهمة في إحداث داء هنتنجتون معقدة، وهي تشمل الموت الخلوي المبرمج وتكدس البروتين داخل الخلايا والسموم المثيرة، وربما عوامل أخرى كالكرب التأكسدي (انظر الفصل 60). وقد برهن استخدام فأر ناقل للجينات (الفصل 42) يحمل جينات بشرية طافرة تُرَمِّز بروتينات مثل الهنتنجتين برهن على

أنه أداة مفيدة لدراسة داء هنتنجتون والأمراض العصبية التنكسية الأخرى ويمكن أن يساعد في توضيح أسبابه الأساسية. ويعرض (الشكل 64-5) مخططاً افتراضياً لبعض الأحداث المساهمة في التسبب بداء هنتنجتون.



الشكل 64-4 : تمثيل تخطيطي للمستقبلة NMDA ومقرات تأثير العوامل المختلفة في المستقبلة. يُبَوب المستقبلة NMDA قناة للكاتيونات تكون نفوذة لأيونات Ca^{2+} و Na^{+} مبوبة بالمغنيزيوم Mg^{2+} بأسلوب معتمد على الفولطاج؛ ويكون أيون البوتاسيوم (k+) هو الأيون المعاكس. وتحصر قناة المستقبلة NMDA بكل من PCP و MK801، وينظِّم المعقد عند مقرين تنظيمين بوساطة الجليسين وأيونات Zn^{2+}. ويمثل AP5 مناهضة تنافسية عند المقر NMDA (PCP =الفنسيكليدين).

طفرة بالتكرر المتوسع ثلاثي النوكليوتيد(CAG) في الجين HD (IT15) في الذراع القصير للكروموسوم 4

↓

اتساع الذيل عديد الجلوتامين لناتجه البروتيني (الهنتجتين) الذي لم تحدد وظيفته الدقيقة بعد

↓

عوامل مختلفة، بما في ذلك تآثر الهنتنجتين مع بروتينات أخرى، يؤدي إلى ظهور تكدسات داخل الخلايا وزيادة الموت الخلوي المبرمج وفعل محتمل للسموم المثيرة، وكلها تسهم في موت بعض العصبونات انتقائياً (مثل عصبونات الجسم المخطط)

↓

علامات داء هنتنجتون (الرقص، التدهور العصبي المترقي،... إلخ)

الشكل 5-64 : مخطط افتراضي لبعض الأحداث المساهمة في إحداث داء هنتنجتون (MIM143100) ولم تقرر تماماً العواقب الدقيقة لفقدان وظيفة الهنتنجتين واكتسابه وظيفة سمية. ويطلق على الجين المسؤول *HD* أو *IT15*.

تسهم السموم المثيرة وآليات كيميائية حيوية أخرى في الأذية الدماغية الناجمة عن السكتة:

تحدث الأذية الدماغية الموضعية في السكتة بسبب نقص تدفق الدم. ويمكن أن تكون النتائج مخربة (مثل فقد الوعي الدائم، الشلل، العمى، فقد النطق) وذلك بحسب المنطقة المصابة من الدماغ وحجم هذه المنطقة. وتصيب السكتات نحو 500,000 فرد سنوياً في الولايات المتحدة، وهي السبب الرئيسي الثالث للوفاة. وكما هو الأمر في داء ألزهايمر، تكون التكاليف الاقتصادية للرعاية الطبية للمرضى المصابين بالسكتة مرتفعة جداً.

من الضروري فهم الآليات الأساسية المساهمة في الأذية الدماغية الناجمة عن السكتة لكي نضع المعالجات المناسبة. وفيما يلي بعض القضايا المهمة.

تنجم معظم السكتات عن حوادث الانصمام الخثاري في الشرايين الدماغية؛ وهذا ينقص تزويد الدماغ بالأكسجين والجلوكوز، ويعد كلا هذين الأمرين مهماً جداً للأيض الدماغي ومن دونهما تحدث بسرعة أذية خلوية دائمة (أقل من ساعة واحدة). وهناك ثلاث مراحل متلاحقة في حدوث الأذية الدماغية الناجمة عن الخثار الدماغي.

(1) التحريض: يؤدي الإقفار إلى زوال استقطاب الغشاء العصبوني مما يؤدي إلى تحرر الجلوتامات. وكما هو الأمر في حال داء هنتنجتون، يؤدي ذلك إلى إثارة مفرطة للمستقبلات NMDA على العُصبونات المجاورة مما يؤدي لحدوث تدفق كبير وشاذ لكل من Ca^{2+} و Na^{+} ومن ثم أذية الخلية أو موتها. كما تنبه الجلوتامات مستقبلات الكاينات AMPA (مما يؤدي إلى تدفق إضافي Na^{+})، وتنبه أيضاً مستقبلات التوجه الأيضي، مما يسبب تحرير ثلاثي فسفات الإينوزيتول وثنائي أسيل الجليسيرول داخل الخلية.

(2) التضخيم: يجري تعزيز تدفق Ca^{2+} لداخل الخلية بوساطة الآليات التالية: (أ) يؤدي ازدياد Na^{+} داخل الخلية إلى تنشيط نواقل Na^{+} - Ca^{2+}؛ (ب) وتتنشط قنوات Ca^{2+} المبوبة بالڤولطاج بوساطة إزالة الاستقطاب؛ و (ج) يحرر ثلاثي فسفات الإينوزيتول أيونات الكالسيوم Ca^{2+} من الشبكة الهيولية الباطنية إلى العصارة الخلوية. وتدعم كافة هذه الآليات الثلاث تعزيز مستويات Ca^{2+} داخل الخلية مما يؤدي إلى تحرير إضافي للجلوتامات واستثارة أكثر للعصبونات المجاورة.

(3) التعبير: ينشط المستوى المرتفع من Ca^{2+} داخل الخلية إنزيمات النوكلياز والبروتياز والفسفوليباز المعتمدة على Ca^{2+}. كما قد يؤدي تدرك الشحميات الفسفورية إلى تشكيل العامل المنشط للصفيحات (PAF) وتحرير حمض الأراكيدونيك، والذي يمكن من خلال أيضه توليد الإيكوسانويدات؛ ويمكن أن يؤدي كلا هذين الشحمين إلى تضيق الأوعية وتفاقم حالة الخثار. كما يؤدي أيض الإيكوسانويدات إلى تشكيل جذور الأكسجين الحرة التى تسبب الأذية بالأكسدة

الفائقة للشحميات في الأغشية العصبونية. وبما أن الجلوتامات تلعب دوراً بارزاً في العمليات السابقة، لذلك دعيت العملية الإجمالية باسم شلال الجلوتامات. وتسهم عدة عوامل إضافية أيضاً في الأذية الدماغية الإقفارية.

تعنى معالجة السكتة بالحد من الأذية الناجمة عن الخثار. ولقد طورت المعالجات التجريبية للحد من التأثيرات الكيميائية الحيوية لشلال الجلوتامات (الجدول 3-64). وكما هي الحال في الخثار في الشرايين التاجية (الفصل 59)، تبين أن الإعطاء الباكر (في خلال 3 ساعات) للمركب PA-t لمرضى منتقين بحذر (لا توجد دلائل على النزف) قد أعاد التدفق الدموي في الشرايين المصابة في عدد معتبر من الحالات.

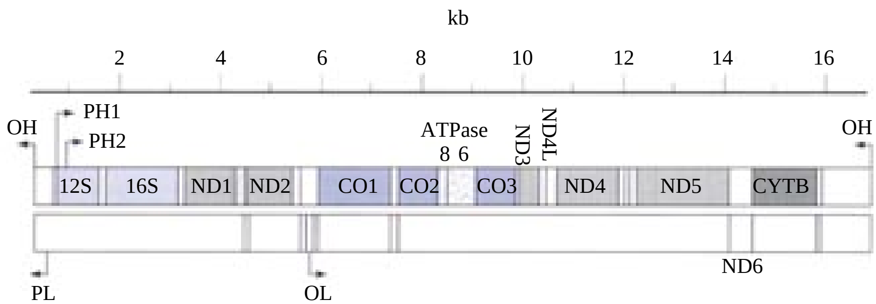
تتضمن الوقاية من السكتة مكافحة عوامل الخطورة مثل فرط ضغط الدم وداء السكري والتدخين وفرط شحميات الدم. ويبدو أن إعطاء الأسبرين بجرعة منخفضة فعال في إنقاص خطر السكتة عند المرضى الذين يعانون من هجمات الإقفار العابر.

مرحلة الشلال	المشكلات الكيميائية الحيوية	الأساليب (المقاربات)
التحريض	تحرر مفرط للجلوتامات تنشيط مستقبلات NMDA	تثبيط تخليق الجلوتامات بوساطة سلفوكزيمين الميثيونين. تخفيض درجة حرارة الجسم إذا كان المريض محموماً؛ وهذا ينقص أيض الدماغ وقد يثبط تحرر الجلوتامات. مناهضات مستقبلة NMDA مثل الدكستروفان و CGS 19755 و MK-801.
التضخيم	تدفق Ca^{2+} بوساطة قنوات Ca^{2+} المبوبة بالڤولطاج	مشتقات ثنائي هيدروالبيريدين (مثل النيمودبين) لإحصار هذه القنوات.
التعبير	إنتاج الجذور الحرة	مثبطات الجذور الحرة (مثل 21- أمينو ستيرويدات)

الجدول 3-64 : بعض المعالجات التجريبية قيد التطوير للحد من شلال الجلوتامات الذي يحدث خلال السكتة (جرى مناقشة المراحل الثلاث للشلال في النص).

تسبب الطفرات في الدنا المتقدري (mtDNA) بعض الاعتلالات العضلية والأمراض العصبية:

تحوي المتقدرات البشرية من اثنين إلى عشر نسخ من جزيء الدنا(DNA) مضاعف الطاق (الخيوط) الحلقي الصغير الذي يشكل نحو 1 ٪ من الدنا(DNA) الخلوي الإجمالي (الشكل 64-6 والجدول 64-4). والصفة الهامة للدنا المتقدري البشري (mtDNA) هي أنه ينتقل بالوراثة غير المندلية الأمومية (لأن كل المتقدرات تأتي من البيضة خلال تشكيل الزيجوت). وبذلك فإن الأم المصابة بالأمراض الناجمة عن طفرات الدنا المتقدري (mtDNA) تنقل نظرياً المرض إلى كافة أطفالها لكن بناتها فقط سوف ينقلن هذه الخلة. إلا أنه في بعض الحالات (انظر لاحقاً) تحدث أخْبان في الدنا المتقدري (mtDNA) خلال تكون البيضة، وبذلك لا تورث من الأم.



الشكل 64-6 : خرائط الجينات المتقدرية البشرية. تمثل الخرائط الخيوط الثقيلة (الخيط العلوي) والخفيفة (الخريطة السفلية) للدنا (DNA) المتقدري الخطي، وتبين جينات وحيدات الإنزيم المؤكسد المختزل لـ Q التميم الإنزيمي – NADH (من ND1 إلى (ND6))، وأكسيداز السيتوكروم C (من CO1 إلى CO3)، والسيتوكروم b (CYTB) ومُخَلِّقة الأتب (ATP و ATPase 8 و 6) وإنزيمات جزيئات RNA المتقدري الريباسي 12S و 16S وقد أشير إلى جزيئات الرنا النقال بمستطيلات مفتوحة صغيرة. كما أشير بأسهم إلى منشأ تضاعف الخيط الثقيل (OH) والخيط الخفيف (OL) ولمعززات ابتداء انتساخ الخيط الثقيل (PH1 و PH2) والطاق الخفيف (PL).

* جزيء حلقي مضاعف الطاق (سلسلة ثقيلة H وأخرى خفيفة L).
* يحوي 16569 زوج أسس أمكن سلسلتها حميعا.
* يرمز 13 وحيدة بروتينية في السلسلة التنفسية (من أصل 67):
  سبع وحيدات من نازعة هيدروجين NADH (المعقد 1).
  السيتوكروم b للمعقد III.
  ثلاث وحيدات لأكسيداز السيتوكروم (المعقد IV).
  وحيدتان لمُخلِّقة الأتب (ATP).
* يرمز جزيئات الرنا (RNA) الريباسية المتقدرية الكبيرة (S16) والصغيرة (S12).
* يرمز 22 جزيء tRNA متقدري.
* يختلف الراموز الجيني قليلاً عن الراموز المعياري:
  يقرأ التسلسل UGA (رامزة إنهاء معيارية) على أنه تريبتوفان Trp يقرأ AGA و AGG (روامز معيارية للأرجينين) على أنهما رامزتا إنهاء.
* يحوي القليل جداً من التسلسلات غير المترجمة.
* يتعرض لمعدل مرتفع من الطفرات (من خمسة إلى عشرة أضعاف ما يتعرض له الدنا (DNA) النووي).
* تعطي مقارنات تسلسلات الدنا المتقدري (mtDNA) دليلاً عن الأصول التطورية للرئيسيات والأنواع الحية الأخرى.

الجدول 4-64 : بعض الملامح الرئيسية لبنية الدنا المتقدري (mtDNA) البشري ووظيفته.

لقد ظهر أن عدداً من الأمراض تنجم عن طفرات الدنا المتقدري (mtDNA) (الجدول 5-64). وتتألف مجموعة منها من الاعتلالات العضلية المتقدرية التي تتميز بوجود متقدرات شاذة الشكل والحجم في العضلات الهيكلية. وتؤدي هذه المتقدرات الشاذة إلى مظهر الألياف الحمراء المهلهلة للألياف العضلية (يتم استبيانها في الخزعات العضلية باستعمال ملون جوموري الثلاثي أو ملونات أخرى). وتشكل الحالات الثلاث الأولى المدرجة في (الجدول 5-64) أمثلة عن الاعتلالات العضلية المتقدرية. ويمكن تصنيف الصرع العضلي الرمعي مع اعتلال العضلات بالألياف الحمراء المهلهلة (متلازمة MERRF) والاعتلال العضلي الدماغي المتقدري مع

حماض لبني وأعراض شبيهة بالسكتة (متلازمة MELAS) أيضاً كاعتلال عضلي دماغي متقدري لأن الدماغ يكون هنا عادة مصاباً بشدة. أما الحالة الأخرى المدرجة في (الجدول 64-5) (اعتلال ليبر العصبى البصري الوراثي [LHON]) فتنجم عن طفرات في الدنا المتقدري (mtDNA)، لكنها ليست اعتلالات عضلية متقدرية لأن العضلات لا تصاب بالضرورة.

لقد تبين أن المصابين بمتلازمة ساير ـ كيرنز (Sayre -Kearns) لديهم أخْبان وتضاعف في الدنا المتقدري (mtDNA). وغالباً ما تتعلق درجة الخبْن بشدة الشلل العيني الخارجي المترقي. ويبدو أن الأخْبان تحدث خلال تكون البيضة، لذلك فهي لا تورث من الأم. وعلاوة على ذلك فهي قد لا توجد في كافة الخلايا، فمثلاً قد لا تتأثر الكريات البيض. ومن جانب آخر، يبدي المصابون بمتلازمة MERRF وبمتلازمة MELAS و LHON طفرات نقطية نوعية (الجدول 64-5). وتنتقل مثل هذه الطفرات النقطية عادة، خلافاً للأخْبان، من الأم. ويدرج (الجدول 64-6) الاختبارات المختبرية ذات القيمة في تشخيص الأمراض الناجمة عن طفرة في الدنا المتقدري (mtDNA).

ومن الضروري هنا مناقشة بعض النقاط الإضافية الخاصة بالأمراض الناجمة عن طفرات الدنا المتقدري (mtDNA):

(1) يمكن أن يتكون الدنا المتقدري (mtDNA) عند المصابين بهذه الأمراض من مزيج الدنا (DNA) الطافر والسوي (heteroplasmy) أو من الدنا (DNA) الطافر كلياً (Homoplasmy) وتتعلق كمية الدنا (DNA) الطافر بشدة المرض عموماً.

(2) يتم ترميز معظم عديدات الببتيد المتقدرية (نحو 54 من 67) بوساطة الجينات النووية مما يعنى أنه، يمكن أن تصيب الطفرات في هذه الجينات الأخيرة بنية المتقدرات ووظيفتها أيضاً. وفي بعض الحالات (مثل LHON)، من الممكن أن تكون التآثرات بين الجينات النووية والمتقدرية مهمة في تحديد النمط الظاهري.

(3) كيف تقوم الطفرات المتقدرية بإحداث تأثيرات نسيجية نوعية؟ ولماذا يصاب العصب البصري بشكل خاص في متلازمة HLON مثلاً ؟ من المحتمل أن يتعلق الجواب بفهم فيزيولوجيا النسيج المصاب، حيث قد تكون فعالية مختزلة التميم الإنزيمي Q المعتمدة على NADH (الذي يصاب في LHON) مهمة على نحو خاص

لهذا النسيج. والمثير في الأمر أن الإعطاء المديد (المزمن) لأزيد الصوديوم (Sodium azide) (الذي يثبط أكسيداز السيتوكروم C) لبعض الحيوانات يؤدي إلى حدوث اعتلال عصبي شبيه بمتلازمة LHON.

الجدول 5-64 : بعض الاعتلالات العضلية المتقدرية والأمراض الناجمة عن الطفرات في جينات المتقدرات

المرض	الألياف الحمراء المهلهلة	مثال عن الطفرة 1	التعبير السريري
متلازمة كيرنز ـ ساير (MIM 165100) (KSS)	+	أخْبان ، تضاعفات	شلل عيني خارجي متفاقم واعتلال الشبكية الاصطباغي وعيوب في التوصيل القلبي موجودة في الطفولة.
الصرع العضلي الرمعي مع الألياف الحمراء المهلهلة (MERFF 254755 MIM)	+	طفرة نقطية في tRNA الخاص بالليسين (الموضع 8344)	صرع رمعي عضلي ورنح يظهران في الطفولة أو الكهولة.
اعتلال الدماغ المتقدري مع الحُماض اللبني وأعراض شبيهة بالسكتة الدماغية (MELAS 540000 MIM)	+	طفرة نقطية في tRNA اللوسين (الموضع 3423)	قيء متقطع وضعف في الأطراف الدانية وأعراض شبيهة بالسكتة الدماغية تحدث في المراهقة أو بعد ذلك.
اعتلال ليبر العصبي البصري الوراثي (LHON) (535000 MIM)	–	طفرة نقطية في مختزلة اليوبيكينون – NADH (الموضع 11.778)	فقد الرؤية بشكل حاد أو تحت الحاد عند الرجال بعمر العشرين

1 – يمكن أن تحدث طفرات أخرى في الحالات المدرجة. ويبدو أن حدوث الطفرات في أنواع tRNA يتعلق بالتكاثر المتقدري الملاحظ في بعض هذه الأمراض، في حين لا يوجد ذلك في طفرات الجينات المرمزة لإنزيمات السلسلة التنفسية.

(4) قد توجد شذوذات في الدنا المتقدري (mtDNA) لدى بعض المصابين بداء باركنسون (انظر لاحقاً) ، ويمكن أن تساهم أيضاً في عملية الشيخوخة.

(5) تبين أن بعض المصابين بداء السكري لديهم طفرات في الدنا المتقدري (mtDNA)، كما في جين الرنا النقّال الخاص باللوسين.

تنجم المواضع الهشة والأمراض العصبية التنكسية المزمنة المتعددة عن توسعات في تكرار النوكليوتيدات الثلاثية:

لقد سبق أن ناقشنا أن داء هنتنجتون ينجم عن نمط من الطفرات يعرف بتوسع تكرار النوكليوتيدات الثلاثية ويدعى أحياناً الطفرة الديناميكية. وكان أول مرض لوحظ فيه هذا النمط من الطفرات هو متلازمة الكروموسوم X الهش. وقد ذكر الأساس الجزيئي له عام 1991، وهو اتساع في تكرار CGG. ومنذ ذلك الوقت تضاعف عدد الأمراض التي تورطت فيها الاتساعات في تكرار النوكليوتيدات الثلاثية؛ ويدرج (الجدول 64-7) بعض هذه الحالات.

وهناك نمطان من الشذوذات مترافقان مع اتساع تكرار النوكليوتيد الثلاثي هما المواضع الهشة على الكروموسومات والداء العصبي التنكسي المزمن. ولم تؤكد بعد الآليات المساهمة في اتساع النوكليوتيدات الثلاثية؛ وتتضمن الأسباب المفترضة انزلاق بوليميراز الدنا (DNA) على بنى الدنا (DNA) الثانوية الشاذة المتشكلة عن طريق الاتساعات.

* وجود ألياف حمراء مهلهلة في الخزعات العضلية (وليس في اعتلال ليبر العصبي البصري الوراثي).
* مقايسات مختلف إنزيمات السلسلة التنفسية.
* تحليل الدنا المتقدري (mtDNA) من العضلات أو من الكريات البيض في بعض الحالات).

الجدول 64-6 : الاختبارات المختبرية المهمة في تشخيص الأمراض الناجمة عن طفرات الدنا المتقدري (mtDNA).

الجدول 7-64 : الأمراض التي تبدي توسعات في تكرار النوكليوتيد الثلاثي 2,1.

الحالة	البروتين المساهم	التسلسل المتكرر	التوضع المتكرر	عدد التكرارات
(MIM 309550) FRAXA	FMRP	CGG	´5-UTR	كبير (200-1000)
(MIM 309548) FRAXE	?	CGG/CCG	?	كبير (200-1000)
(MIM 313200) SBMA	مستقبلة الأندروجين	CAG	ORF	صغير (أقل من 100)
(MIM 143100) HD	الهنتنجتين	CAG	ORF	صغير (أقل من 150)
(MIM 164400) SCA1	الأتاكسين 1	CAG	ORF	صغير (أقل من 100)
(MIM 183090) SCA2	الأتاكسين 2	CAG	ORF	صغير (أقل من 100)
(MIM109150) SCA3	الأتاكسين 3	CAG	ORF	صغير (أقل من 100)
DRPLA/HMS (MIM 125370)	?	CAG	ORF	صغير (أقل من 100)
الحثل العضلي التأتُّري أو (التشنجي) (MIM 160900)	كيناز بروتين الميوتونين	CTG/CAG	3-UTR	كبير جداً (200-4000)
رنح فردراخ (MIM 229300)	الفراتكسين	GAA	إنترون	كبير (200-1700)

1 – تبدي معظم الحالات المذكورة درجات كبيرة أو صغيرة من التوقع. ولم يُشَر في الجدول إلى الوالدين الذي حدث لديه الاتساع (مثلاً من خلال الأم حصراً في متلازمة الكروموسوم X الهش، أو غالباً من خلال الأب في داء هنتنجتون). وتبدي معظم الحالات المدرجة ظاهرة التوقع؛ وهذا غير موجود في الضمور العضلي النخاعي البصلي المرتبط بالكروموسوم X، ومن الملاحظ أن الطفرات يمكن أن تتوضع في المنطقة 5´ غير المترجمة من الجين المتأثر، أو في إطار القراءة المفتوح، أو في المنطقة 3´غير المترجمة من الجين المتأثر أو في الإنترون. وفي معظم الحالات، لا تكون وظائف البروتينات المشار إليها أعلاه مؤكدة. كما لم تدرج أسماء الجينات المتأثرة. تم تحديد مواضع هشة أخرى (مثل FRAXF و FRAX 16A1)، لكنها لم تدرج هنا . ويمكن للقارئ العودة إلى مرجع بالطب الباطني أو الأمراض العصبية أو إلى MIM أو OMIM للاطلاع على الموجودات السريرية في مختلف الحالات المدرجة.

2 – المفتاح: FRAXA، متلازمة الكروموسوم X الهش؛ FRAXE، متلازمة FRAXE SBMA: الضمور العضلي النخاعي البصلي المرتبط بالكروسوم X (داء كينيدي)؛ SCA1, SCA2, SCA3، (داء ماكادو ـ جوزيف)، الرنح المخيخي النخاعي من الأنماط 1 و 2 و 3؛ HD: داء هنتنجتون؛ DRPLA/HRS، الضمور المسنسن الحمراوي الشاحب بنموذجه الأليلي، متلازمة نهر هاو؛ UTR، منطقة غير مترجمة؛ ORF، إطار القراءة المفتوح.

تؤدي الاتساعات CGG/CCG إلى المواضع الهشة على الكروموسومات:

تؤدي الاتساعات CGG/CCG إلى حدوث المواضع الهشة على الكروموسومات كما هو الحال في متلازمة الكروموسوم X الهش وفي حالات أخرى عديدة (انظر الملاحظات على الجدول 64-7). وتعد متلازمة الكروموسوم X الهش اضطراباً وراثياً متنحياً مرتبطاً بالكروموسوم X يتصف بتخلف عقلي خفيف إلى معتدل الشدة وضخامة في الرأس والأذنين والخصيتين. ويبلغ معدل انتشاره 1/1250 بين الذكور في أمريكا الشمالية، وهو مسؤول عن نسبة معتبرة من الذكور الموجودين في المصحات بسبب التخلف العقلي. ويعد هذا الاضطراب السبب الرئيسي بعد متلازمة داون للتخلف العقلي المترافق بشذوذ كروموسومي معروف. وهو من ناحية الوراثة الخلوية، يتظاهر بتضيق قرب النهاية (Xq27) للذراع الطويل كعقدة صغيرة متصلة ببقية الكروموسوم بسويقة رفيعة.

ويمكن تحريض الموضع الهش (المسمى FRAXA في متلازمة الكروموسوم X الهش) ليظهر في مستنبتات الكريات البيضاء بنفاد الفولات أو إضافة الميثوتركسات، وكلاهما يثبط تضاعف الدنا (DNA)؛ إلا أن دقة الاختبار عند الإناث الناقلات له تكون أقل من 30٪.وقد أمكن تمديد مواضع هشة أخرى FRAXF) و (FRAXE قرب FRAXA على النهاية البعيدة من Xq؛ ويتوضع FRA16A على الكروموسوم 16. ويترافق FRAXE مع تخلف عقلي خفيف، لكن قد لا يترافق FRA16A و FRAXF مع أية حالات مرضية. ولم يتضح سبب الهشاشة المترافقة مع التوسعات CGG/CCG؛ غير أن سبب المواضع الهشة المكتشفة تتوضع حتى الآن قرب الجزيرة CpG، ويبدو أن هناك علاقة بين تضخيم تكرارات CGG/CCG وفرط المثيلة وتعبير المواضع الهشة. ومن الممكن أن المثيلة عند المواضع CGG تثبت مناطق الدنا (DNA) الرباعية المتشكلة بمسالك CCG، وهذا يمكن أن يؤدي إلى تقييد تضاعف الدنا (DNA) وتكاثف الكروماتين، مما يسبب حدوث الموضع الهش. ومن جانب آخر، اقترح من خلال الدراسات على FRA16A أن المثيلة قد تكون نتيجة أكثر من كونها سبباً لنشوء المواضع الهشة بحيث تبقى الآليات المساهمة في الهشاشة غير مؤكدة.

إن وراثيات الكروموسوم X الهش مخادعة. حيث يبدو أن الزيادة الصغيرة في التوسع تجعل تكرار النوكليوتيد الثلاثي غير مستقر. وهذا ما يدعى بطليعة الطفرة (Premutation) فالرجل الذي يحمل طليعة الطفرة هو ذكر ناقل سوي، وتحمل كافة بناته طليعة الطفرة لكنهن يكن سويات. وأما أبناؤهن فيكونون في خطر من توسع طليعة الطفرة فإذا وصلت إلى 200 تكرار فإن ذلك يشكل طفرة كاملة. وبالنسبة للنساء اللواتي لديهن طفرات كاملة، فإن هناك خطراً مقداره 50 ٪ لإصابة كل أبنائهن، وسوف ترث كل بنت لهن الطفرة الكاملة. ويكون نحو نصف النساء الممتلكات الطفرة الكاملة متخلفات عقلياً بشكل خفيف. ويبدو أن اتساع تكرار النوكليوتيد الثلاثي يثبط انتساخ الجين (FMR-1) المتأثر في متلازمة الكروموسوم X الهش؛ ولم يتم بعد تحديد وظيفة ناتجة البروتيني، وأصبح استقصاء الأسر ذات الخطر العالي والتشخيص قبل الولادة ممكنين الآن باستعمال اختبارات الدنا (DNA).

يقدم اتساع تكرار النوكليوتيد الثلاثي تفسيراً لظاهرة التوقع. وهي ميل بعض الأمراض الوراثية إلى الظهور في عمر باكر عند بدئها أو بشكل تعبير شديد في الأجيال الأخيرة من الأسرة. ويدرج (الجدول 64-7) معظم الأمراض التي تبدي التوقع.

تؤدي التوسعات في تكرار ثلاثيات النوكليوتيد إلى عدد من الأمراض العصبية التنكسية المزمنة:

إن توسعات التكرر CAG مكتنفة، كما هو مبين في (الجدول 64-7)، في التسبب بسبعة أمراض عصبية تنكسية مزمنة على الأقل مع احتمال اكتشاف المزيد منها .وتكون معظم الحالات متأخرة البدء، ويكون الموت العصبوني الانتقائي (الموت الخلوي المبرمج ؟) بارزاً فيها جميعاً. وتحدث الطفرات عموماً في أطر القراءة المفتوحة في الجينات المتأثرة، وتكون التوسعات أصغر مما هو موجود في حالات الكروموسوم الهش. وكما هو الأمر في داء هنتنجتون (انظر سابقاً)، لم يثبت بعد ما إذا كانت الطفرات تترافق بفقدان وظيفة البروتينات المشاركة أو كسب وظائف سمية

جـديدة. ويمكن أن تتـآثر الذيول عـديدة الجلوتامين مع الدنا (DNA). وقـد تؤدي البروتينات الطافرة (كما هي الحال في داء هنتنجتون) إلى ظهور تكدسات بروتينية داخل الخلية أو إلى تسريع الموت الخلوي المبرمج نوعاً ما.

يختلف الحثل العضلي التأتري (التشنجي) بعدة أوجه عن الاضطرابات الأخرى المذكورة في (الجدول 64-7). حيث تكون الطفرة في النهاية 3´ غير المترجمة من الجين، وهذا يطرح سؤالاً عن كيفية قيام تسلسل غير مترجم بتوليد المرض العصبي. ويكون اتساع النوكليوتيد الثلاثي أكبر بكثير مما هو في حالة الاضطرابات الأخرى، كما يكون التوقع مظهراً بارزاً.

تعكس علامات داء باركنسون عوز الدوبامين في المادة السوداء والجسم المخطط:

يتصف داء باركنسون بالرعاش وبطء الحركة ونقصها وبالصمل وعدم ثبات الوضعية. وهو نادر قبل عمر 40 عاماً. وقد اشتبه بوجود مكون وراثي منذ سنوات كثيرة، لكن لم يثبت ذلك بعد. وقد زاد الاهتمام حديثاً عندما تبين أنه قد يكون هناك نقص في نشاط المعقد I من السلسلة التنفسية في المادة السوداء عند بعض الأفراد المصابين بداء باركنسون (انظر لاحقاً) ويقدر أن 1٪ من الأفراد فوق عمر 50 سنة مصابون بهذه الحالة. ويقال عن المرضى الذين يبدون هذه العلامات إنهم يظهرون الباركنسونية (Parkinsonism)؛ وبذلك يكون داء باركنسون هو أحد أسباب الباركنسونية (انظر فيما بعد).

إن الميزة التشريحية المرضية الرئيسية لداء باركنسون هي تنكس الخلايا المنصبغة في المادة السوداء. وعندما تكون هذه الخلايا سوية، فهي تقوم بتخليق الدوبامين واستعماله كناقل عصبي، لذلك يقال عنها إنها دوبامينية الفعل. وتوجد العصبونات الدوبامينية الفعل في عدد من مناطق الدماغ بما في ذلك الجُمَل المخططة السوداء والحوفية المتوسطة والقشرية المتوسطة وجملة الأحدوبة النخامية. ويكون المظهر المرضي العصبي المميز هو وجود أجسام لوي (Lewy) في المادة السوداء والمناطق الدماغية الأخرى المصابة في داء باركنسون. وهذه الأجسام هي

أجسام اشتمالية هيولية حمضة داخل العُصبونات تتكون من خيوط عصبية ومادة أخرى عديمة الشكل. وقد تبين أنها تتلون إيجابياً بالنسبة إلى البروتينات السكرية واليوبيكويتين (الفصل 31) والسينوكلين ـ ألفا (انظر فيما بعد).

يعرض (الشكل 64-7) العملية الإجمالية المساهمة فى عمل الدوبامين كناقل عصبي. وكما في حالة الأسيتيل كولين (الشكل 64-1)، يمكن تقسيم العملية إلى 6 خطوات تقليدية. وتسهم عملية مماثلة في آلية عمل النواقل العصبية أحادية الأمين الأخرى (النورابينيفرين والإبينيفرين)، مع وجود فوارق مهمة في بعض الخطوات أحياناً.

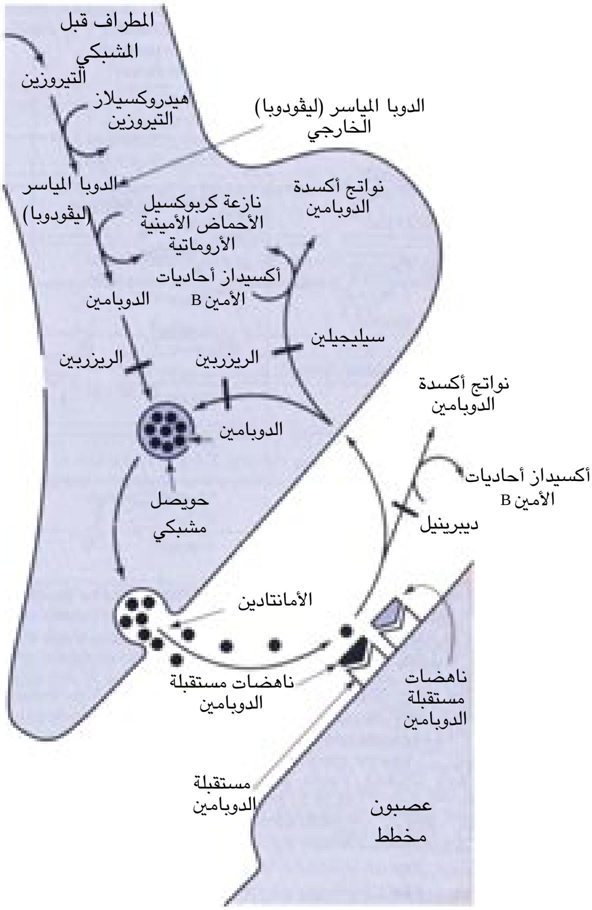
1 – يحدث تركيب الدوبامين من التيروزين، ويتضمن ذلك عدداً من التفاعلات الإنزيمية.

2 – الخطوة التالية هي تخزين الدوبامين في الحويصلات المشبكية ويتحرض دخول الدوبامين بتأثير مدروج الباهاء (pH) الذي يحققه بروتين موجود في الغشاء الحويصلي يضخ البروتونات إلى الحويصل: مستخدماً الأتب (ATP).

3 – يتضمن تحرير الدوبامين عملية التفاظ (Exocytosis). وتكون الآلية مماثلة لتلك الموصوفة سابقاً بالنسبة إلى تحرر الأسيتيل كولين.

4 – يحدث بعد ذلك ارتباط الدوبامين بمستقبلاته بعد المشبكية، ويصل الأمين لمستقبلاته بالانتشار عبر الفلح المشبكي. وكما شرحنا أعلاه في هذا الفصل، هناك 5 صفوف على الأقل من مستقبلات الدوبامين. وهي تنتج تأثيراتها المستفعلة بالتأثير في مُحَلِّقَة الأدينيليل إيجابياً أو سلبياً، أوفي حالة واحدة على الأقل، بالتأثير في جملة تبليغ أخرى للإشارة (أي الفسفوليباز C ودورة عديد فسفات الإينوزيتيد).

5 – يعاد قبط الدوبامين؛ ويُنْجَز ذلك بناقل عالي الألفة يستعمل الأتب (ATP) ويوجد في الغشاء قبل المشبكي. ويمكن أن ينجبل الدوبامين المستعاد في الحويصلات المشبكية ويعاد استخدامه كناقل.



الشكل 7-64 : رسم تخطيطي يبين إطلاق الدوبامين من العَصبون في المادة السوداء، ويظهر أيضاً مواضع فعل الأدوية التي تحسن الباركنسونية أو تفاقمها. وقد تم تمثيل الخطوات الست التي نوقشت في النص لكنها لم تُرَقَّم في هذا الشكل. كما يبدي الشكل مواضع تأثير الأدوية المُستخدمة في معالجة الباركنسونية [الدوبا المُياسر والسيليجيلين (الديبرينيل) والأمانتادين ومناهضات مستقبل الدوبامين (كالبروموكربتين)]. وترفع هذه الأدوية عموماً المستويات الموضعية للدوبامين فتعاكس بذلك مستواه المنخفض الموجود في الباركنسونية. كما أشير أيضاً إلى مواضع فعل بعض الأدوية (الرزربين ومناهضات (ضواد) مستقبل الدوبامين، مثل الكثير من مضادات الذهان) التي تحرض الباركنسونية من خلال استنفاد الدوبامين أو منافسته.

6 – يمكن أن يجري تدرك الدوبامين ضمن الفلح المشبكي، أو بعد إعادة القبط في النهاية قبل المشبك. وتوجد أكسيداز أحاديات الأمين B (MAO- B) في الغشاء الخارجي للمتقدرات ضمن النهاية قبل المشبك؛ كما توجد في الفلح المشبكي. ويجري تمييز MAO-B و MAO-A أحدهما عن الآخر من خلال تفضيلهما لركائز مختلفة وقابليتهما المختلفة للاستجابة للمثبطات المتنوعة. ويستطيع كلا الإنزيمين العمل على الدوبامين. فيتشكل بذلك 3، 4 – ثنائي هيدروكسي فينيل أسيتيل الألدهيد (DOPAC). ويتحول هذا الأخير إلى حمض الهوموڤانيليك بتأثير ناقلة ميثيل الكاتيكول –O (COMT) (الشكل 49-3). وتحظى هذه الحقيقة بأهمية من حيث علاقتها مع الفصام (انظر لاحقاً) لأن مستوى حمض الهوموڤانيليك في السائل النخاعي (CSF) يمكن أن يستخدم لمتابعة أيض الدوبامين في الدماغ. ويعمل السيليجيلين على تثبيط MAO-B، في حين يكون الكلورجيلين مثبطاً نوعياً للإنزيم من النمط A. ويبين (الشكل 64-7) أيضاً مواضع فعل عدد من الأدوية المستخدمة لمعالجة الباركنسونية وأخرى مما تتسبب بحدوث الباركنسونية كتأثير جانبي غير مرغوب لها؛ وتتأثر الخطوات الست المذكورة سابقاً جميعها بالأدوية المختلفة.

تؤدي العملية التنكسية المشار إليها أعلاه إلى نقص ملحوظ في تخليق الدوبامين وإلى انخفاض تال في مستواه على مستوى المادة السوداء والجسم المخطط (النواة المذنبة والبطاقة: Putamen). ويرفع انخفاض الدوبامين نسبة الأسيتيل كولين المبينة إلى الدوبامين في خلايا الجملة المخططة السوداء لأن مستويات الأسيتيل كولين لا تتأثر كثيراً. ويسهم اضطراب التوازن هذا في مختلف اضطرابات الحركة الموجودة في داء باركنسون.

أما لماذا تتضرر الخلايا دوبامينية الفعل في المادة السوداء في المقام الأول؟ فالسبب ليس واضحاً. ويمكن أن يكون هناك استعداد وراثي في بعض الحالات. وقد تبين مؤخراً أن أعضاء من بعض الأسر التي تتميز بمعدل حدوث عال لداء باركنسون تبدي طفرات في الجين المُرمِّز لبروتين السينوكلين ـ ألفا، وهو بروتين قبل مشبكي ربما يساهم في اللدونة العصبونية. ومع ذلك قد يكون هذا الشذوذ محصوراً بعدد صغير من الأفراد المصابين بداء باركنسون. واللافت للنظر هو

وجود أجسام لوي (انظر فيما بعد) التي تتلون بقوة بأضداد السينوكلين ـ ألفا مما يفترض أنه قد يكون البروتين الأساسي في هذه البنى. ويمكن أن تعكس الأذية الخلوية جزئياً عملية شيخوخة لأن نحو 13 ٪ من خلايا المادة السوداء تزول كل عقد بعد عمر 25 سنة. ويقدر أن علامات داء باركنسون تظهر عندما ينقص مستوى الدوبامين في الجملة العصبية المخططة السوداء حتى 80 ٪. وقد تؤدي العداوى الڤيروسية إلى الباركنسونية، لكن يبدو ذلك أنه سبب بسيط نسبياً في هذه الأيام. وقد سبب التعرض لمستويات مرتفعة من Mn^{2+} إلى الباركنسونية عند عمال المناجم. وتعد الأدوية (مثل الرزربين ومضادات الذهان) سبباً مهماً للباركنسونية التي قد تكون عكسية عند إيقاف العلاج. وكما هو مبين في (الشكل 64-7)، يقوم الرزربين باستنفاد الدوبامين بتثبيطه لتخزين الدوبامين في الخلايا قبل المشبك، ويحاصر العديد من مضادات الذهان مستقبلات الدوبامين. ويمكن أن يؤدي مشتق الأحماض الأمينية بيتا –N – ميثيل – أمينو – L – ألانين (BMAA)، الموجود في بذور شجرة السيكاد (Cycad)، إلى الباركنسونية وقد يكون مسؤولا عن ارتفاع نسبة حدوث هذه الحالة في جزيرة جوام (Guam)حيث يستخدم الكثير من السكان البذور كجزء من قوتهم. ولذلك يعد BMAA ذيفاناً عصبياً. وتركز في الأعوام الأخيرة جُل الاهتمام على 1– ميثيل – 4 – فينيل – 6،3،2،1 – رباعي هيدرو البيريدين (MPTP) كسبب للباركنسونية الحادة عند مدمني الأدوية الوريدية. وهذا المركب هو ناتج جانبي في تخليق مشتقات الهيروين التخليقية، وهو يلوث مستحضراته المصنعة بشكل غير مشروع. ويتحول MPTP بفعل أكسيداز أحاديات الأمين B إلى أيون 1– ميثيل – 4 – فينيل البيريدينيوم (MPP^+) الذي يبدو أنه العامل العصبي السمي الحقيقي. ويقبط MPP^+ بوساطة جملة قبط الدوبامين في الخلايا دوبامينية الفعل للمادة السوداء ويقوم بأذيتها. واللافت للنظر، على خلفية مساهمته المحتملة في بعض حالات داء باركنسون، أنه قد يثبط المعقد I في السلسلة التنفسية مما يؤدي إلى انخفاض مستوى الأتب (ATP). وبسبب طبيعته كجذر حر، قد يعمل MPP^+ من خلال التسبب بأذية أكسدية (الفصل 60) كما يمكن أن يتأكسد الدوبامين نفسه لتشكيل جذور سامة كامنة. وهناك عامل آخر هو أن MPP^+ قد ينبه إنتاج أكسيد

النتريك (انظر الفصل 58) الذى يستطيع تثبيط المعقد I وزيادة إنتاج الجذور الحرة السامة أكثر. وقد تبين أن تثبيط تخليق أكسيد النتريك، بإعطاء 7 – نتروإندازول، يمنع أذية العصبونات دوبامينية الفعل وأعراض باركنسون عند قرود البابون المعالجة بـ MPTP. وقد طرحت المعرفة المتزايدة حول هذه السموم العصبة سؤالاً مفاده: كيف يمكن أن تساهم السموم العصبية والجذور الحرة في نشوء داء باركنسون.

يعبر الليڤودوبا الحاجز الدموي الدماغي ويتحول إلى الدوبامين في الدماغ، ومن ثم يقدم معالجة تعويضية في داء باركنسون:

في الستينات من القرن العشرين، أصبح واضحاً أن مستويات الدوبامين منخفضة في الجملة المخططة السوداء، بدأ بذلك عهد جديد في معالجة داء باركنسون التى تضم ثلاثة أساليب رئيسية:

أ – المعالجة المضادة للفعل الكوليني: وكانت هي المداواة الرئيسية قبل وضوح دور انخفاض مستويات الدوبامين، وما تزال تُستخدم مع بعض المرضى.

ب – المعالجة بطلائع الدوبامين: لا يعبر الدوبامين بحد ذاته الحائل الدموي الدماغي، ولذلك لا يمكن استخدامه في معالجة داء باركنسون؛ غير أن تطبيق طلائع الدوبامين يعيد مستوياته إلى حد قريب من السوي. ويعد عقار الليڤودوبا (Levodopa) (الدوبا المياسر؛ 3، 4 – ثنائي هيدروكسي الفينيل ألانين المياسر) هو الدواء المنتخب. وهو يعبر الحائل الدموي الدماغي حيث يتحول إلى الدوبامين بفعل نازعة كربوكسيل الدوبا (تدعى أيضاً نازعة كربوكسيل الحمض الأميني الأروماتي، الشكل 64-7). ولكن ينزع كربوكسيل معظم الدوبا المُعطى محيطياً، ولا يصل منه سوى 1٪ إلى الدماغ. ولأنها تؤدي إلى غثيان شديد وقيء، ليست الجرعات المرتفعة من الليڤودوبا هي الحل، بل إعطاء الليڤودوبا مع الكاربيدوبا (Carbidopa) الذي يثبط نشاط نازعة كربوكسيل الدوبا المحيطية دون أن يعبر الحائل الدموي الدماغي. وتؤمن الوجبات الغنية بالبروتين الأحماض الأمينية التي تنافس على قبط الليڤودوبا

من الخلايا المعوية؛ وينقص هذا التأثير بتناول وجبات فقيرة بالبروتين. وقد أصبح الليفودوبا الركن الأساسي في معالجة المصابين بداء باركنسون منذ طرحه في الستينات من القرن العشرين. وفي الحقيقة، يتطلب تشخيص داء باركنسون إثبات الاستجابة المفيدة لهذا الدواء، في حين لا يبدي الكثير من المصابين بالباركنسونية استجابة كبيرة نحوه. إلا أنّه بعد نحو 5 سنوات تزول تأثيراته، وتصبح المعالجة البديلة عندئذ أمراً ضرورياً.

جـ – نواهض مستقبلات الدوبامين: تنبه هذه الأدوية تأثيرات الدوبامين نفسه (الشكل 64-7) ويفيد البروموكربتين في هذا المجال.

هناك أدوية أخرى تفيد في معالجة داء باركنسون لأنها تؤثر في أيض الدوبامين أو تعمل كواقيات عصبية:

هناك معالجات أخرى تعتمد بشكل رئيسي على معرفة نفاد الدوبامين وكيفية تأذي المادة السوداء بالذيفانات العصبية. ويقوم الأمانتادين (مضاد ڤيروسات) بتحريض إطلاق الدوبامين من النهايات قبل المشبكية للخلايا دوبامينية الفعل فيزيد تركيزه عند الموصل بعد المشبك (الشكل 64-7). ويثبط المازيندول قَبط الدوبامين فيزيد تركيزه عند الموصل بعد المشبك. كما يثبط السيليجيلين إنزيم MAO-B (الشكل 64-7) مقللاً تدرك الدوبامين وبذلك يزيد من تركيزه، أي الدوبامين.

تشتمل الأساليب الجراحية لمعالجة داء باركنسون على حقن طعوم ذاتية كظرية صغيرة في النوى المذنبة أو الأتبة، ويقوم لب الكظر بتخليق كاتيكولامينات مختلفة بما في ذلك الدوبامين. كما تخضع الغرائس النسيجية الجنينية التي تحوي خلايا سوداء مضغية للدراسة أيضاً. ويبدو أن التنبيه الكهربي لمناطق معينة من الدماغ نافع في بعض الحالات. وهناك أسلوب آخر قيد الدراسة هو حقن الأرومات الليفية المُهَنْدَسة وراثياً بحيث تحتوي على أنشطة مرتفعة لهيدروكسيلاز التيروزين، وهو إنزيم محدد للسرعة في سبيل تخليق الدوبامين. كما تجري استقصاءات على استعمال الڤيروسات الغدية المرمزة للإنزيم نفسه أو لإنزيمات عصبية وقائية أخرى (مثل ديسموتاز فوق الأكسيد).

يتوضع البروتين النشواني ـ بيتا في أدمغة المصابين بداء آلزهايمر (الخرف الكهلي):

داء ألزهايمر (Alzheimer Disease) (الخرف الشيخوخي) هو اضطراب نفسي عصبي يتعذر شفاؤه ويحدث فيه خلل متفاقم في الوظيفة الاستعرافية (الإدراك)، ويترافق عادة باضطرابات وجدانية وسلوكية. ويعاني نحو مليوني شخص في الولايات المتحدة من داء ألزهايمر، ومن المحتمل أن يزداد انتشاره مع زيادة متوسط الأعمار. ويكون لبعض الحالات أساس عائلي، لكن أغلبها فرادية. ويعد داء ألزهايمر السبب الأكثر شيوعاً للخرف (Dementia) الذي يمكن تعريفه بأنه تراجع مترق في الوظائف الفكرية بسبب عضوي يتدخل تدخلاً واضحاً في أنشطة الفرد. ويلقي داء ألزهايمر بعبء ثقيل على العائلات ونظام الرعاية الصحية، وعاجلاً أم آجلاً لا يستطيع معظم المرضى العناية بأنفسهم. وتكون الكلفة الاقتصادية لداء ألزهايمر في الولايات المتحدة الأمريكية مرتفعة جداً (أكثر من 40 بليون دولار سنوياً)؛ والعمر المألوف لبدء المرض هو أكثر من 65 سنة، ولكن قد يظهر المرض في أول الأربعينات؛ وتتراوح البُقيا بين 2-20 سنة. وغالباً ما يكون نقص الذاكرة هو العلامة الأولى؛ ثم يترقى المرض عادة باطراد ليصبح المرضى في نهاية المطاف عاجزين تماماً.

إن الصورة الباثولوجية الأساسية هي عملية تنكسية تتصف بفقدان الخلايا في بعض مناطق الدماغ (مثل القشر والحصين). وقد يساهم الموت الخلوي المبرمج (الفصل 62) في الموت الخلوي لدى مرضى داء ألزهايمر والأمراض العصبية التنكسية الأخرى المدروسة في هذا الفصل. وعلى المستوى المجهري، تكون العلامات الواصمة هي وجود لويحات نشوانية محاطة بخلايا عصبية تحوي حبيكات عصبية ليفية (Neurofibrillary Tangles) (خيوط حلزونية مزدوجة تتشكل من أشكال مفرطة الفسفتة لبروتين مرافق للنبيبات المجهرية، التاو). وتكون ترسبات الأميلويد شائعة في الأوعية الدموية الصغيرة.

ما تزال الأبحاث المكثفة مستمرة لتحديد سبب داء ألزهايمر. وقد حدث تقدم هام في السنوات الأخيرة. وتركز الاهتمام بشكل خاص على وجود ببتيد الأميلويد ـ بيتا، وهو المقوم الرئيسي في اللويحات الموجودة في داء ألزهايمر. ويشير مصطلح

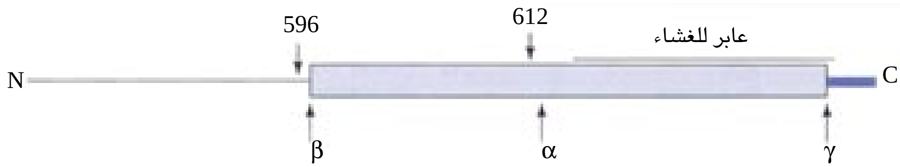
«نشواني» (Amyloid) إلى مجموعة من التوضعات البروتينية المتنوعة خارج الخلايا والموجودة في عدد من الأمراض المختلفة. وتتلون البروتينات النشوانية عادة بالأزرق عند استخدام اليود مثل النشا، وهذا هو سبب التسمية. وتنص فرضية شلال النشواني على أن توضع النشواني – بيتا هو سبب التغيرات الباثولوجية الملاحظة في أدمغة ضحايا داء ألزهايمر، وأن التغيرات الأخرى مثل الحبيكات العصبية الليفية والتغيرات الوعائية هي ثانوية. ويشتق النشواني ـ بيتا من طليعة بروتينية كبيرة تدعى طليعة بروتين النشواني (APP) الذي يتوضع جينه على الكروموسوم 21 قرب المنطقة التي تتأثر في متلازمة داون (تثلث الكروموسوم 21). وغالباً ما يعاني المصابون بمتلازمة داون، الذين يبقون حتى عمر 50 سنة، من داء ألزهايمر.

كما هو مبين في (الشكل 64-8)، APP هو بروتين عابر للغشاء يمكن أن يظهر بشكل نظائر مختلفة. وقد أشير في الشكل إلى ببتيد النشواني ـ بيتا؛ ويمكن أن يختلف في طوله من نحو 39 إلى 42 حمضاً أمينياً، ويكون في الحالة الأخيرة أكثر تكويناً للنشواني. وعندما ينشطر عن بروتينه الأصلي، يشكل النشواني ـ بيتا توضعاً غير ذواب خارج الخلايا. ويمكن أن ينشطر APP بثلاثة إنزيمات على الأقل عند مواضع أشير إليها في الشكل. وينتج إنزيم السكريتاز ـ ألفا شدفة ذوابة (sAPPα) تحوي فقط جزءاً من الأميلويد ـ بيتا. وتشطر فعاليات السكريتاز ـ بيتا وجاما النشواني ـ بيتا من APP ولم يثبت بعد كيف يجري تنظيم هذه الإنزيمات.

لقد وجدت طفرات في جينات معينة لدى بعض المصابين بداء ألزهايمر كما هو مشروح لاحقاً. وأحد هذه الجينات يرمز البروتين APP.

يفترض الجزء الثاني من فرضية شلال النشواني الذي يتعلق بحدوث داء ألزهايمر أن الشدف المحتوية على النشواني ـ بيتا A أو النشواني ألفا A تكون سامة عصبياً بشكل مباشر أو غير مباشر. وهناك دلائل على أن تعرض العَصبونات للنشواني ـ بيتا يمكن أن يرفع تركيز أيونات الكالسيوم داخل خلاياها. ويتم تنظيم بعض الكينازات البروتينية، بما في ذلك التي تساهم في فسفتة التاو، بوساطة مستويات أيونات الكالسيوم. وبذلك يمكن أن تؤدي زيادة الكالسيوم إلى فرط فسفتة التاو وتشكيل خيوط حلزونية مزدوجة موجودة في الكتل المتشابكة الليفية العصبية.

ويظهر (الشكل 64-9) مخططاً افتراضياً للتسلسل المحتمل للأحداث في بعض حالات داء ألزهايمر.



الشكل 64-8 : ترسيم لبنية طليعة بروتين النشواني ـ بيتا البشري (APP)، وقد تم التعرف على عدة أشكال أسوية؛ ويظهر في الشكل النظير المكون من 695 حمضاً أمينياً. ويتكون APP من حقل كبير خارج الخلية بطول نحو 616 حمضاً أمينياً وحقل عابر للغشاء ومِطراف كربوكسيلي هيولي قصير. كما يظهر في الجزء المُصندق من المخطط ببتيد الأميلويد – بيتا المكون من 42 حمضاً أمينياً. ويعالج APP بثلاث بروتيازات مختلفة على الأقل: فيشطره السكريتاز ـ بيتا ما بين الحمضين الأمينيين 596 و 597، ويشطره السكريتاز ـ جاما ما بين الحمضين الأمينيين 638 و 639، ويحرر هذان الشطران النشواني ـ بيتا الكامل (1-42)، وهو الشكل الأكثر توليداً للُّييفات في الببتيدات النشوانية. ويشطر السكريتاز – ألفا بين الحمضين الأمينيين 612 و 613 ، وبذلك ينشطر ببتيد النشواني ـ بيتا الفعال، ويتحرر الشكل الإفرازي من sAPPα. وما تزال العوامل التي تنظم أنشطة مختلف البروتيازات قيد الاستقصاء. ولا تظهر في هذا الشكل تفاصيل أخرى عن بنية APP (مثل بعض الحقول).

لقد أمكن عزل الجينات المتورطة في داء ألزهايمر:

من المعروف أن بعض حالات داء ألزهايمر ذات أساس عائلي. وقد أمكن في السنوات الأخيرة تحديد المواضع الكروموسومية التي تحمل مثل هذه الجينات بدراسات تحليل الارتباط الوراثي. ثم أتبع ذلك بجهود مكثفة لعزل الجينات المسؤولة (الفصل 63). وتظهر الجينات المساهمة في إحداث المرض طفرات غير موجودة لدى الأفراد الأسوياء. ويدرج (الجدول 64-8) بعض نتائج هذه الدراسات. وقد قادت المعطيات عن الطفرات في الجين على الكروموسوم 21 المرمِّز للبروتين APP إلى

الإعتقاد بأنه مرشح للمساهمة في معظم حالات داء ألزهايمر. إلا أنه وجد أن هذا الجين لا يساهم إلا في عدد صغير من الحالات وقد تم عزل جينين آخرين يسهمان في بعض الحالات العائلية لداء ألزهايمر؛ ويبدو أنهما يرمزان بروتينات عابرة للغشاء تبدي تماثلاً مع البروتين SPE-4 للدودة *(Caenorhabditis elegans)*، وهي دودة مدورة تمت سلسلة مَجينها ضمن مشروع المجين البشري (انظر الفصل 63). ويبدو أن هذا البروتين يساهم في معقد العضي الغشائي للجسم الليفي (FBMO) خلال تكون النطاف. ويعد FBMO عضياً متخصصاً يمكن أن يشارك في نقل البروتينات الذاوبة والمرتبطة بالغشاء. وهذا أدى إلى الافتراض بأن هذه البروتينات (تسمى البريزينيلينات أو «الممهدة للشيخوخة» Presenilins) المرمزة بجينات مكتشفة حديثاً قد تسهم في نقل APP أو معالجته.

من الموجودات المثيرة ظهور أن الجين *APOE4*، وهو الجين المرمز لصميم البروتين الشحمي E4 (apoE4) (الفصل 27) على الكروموسوم 19، هو جين الاستعداد للإصابة بداء ألزهايمر المتأخر. ويدفع هذا الجين ابتداء هذه الحالة للأمام بمقدار 20 سنة تقريباً. ولكن كيف يمكن أن apoE3 أو apoE2 يكون ممتزجاً مع التاو في ظروف مناسبة، فيؤدي إلى أشكال مترسبة، في حين لا يشكل apoE4 مثل هذا الراسب. ويكون ارتباط apoE4 بالتاو أضعف بشكل واضح من ارتباط الأشكال الأسوية الأخرى. لذلك، اقترح أنه عندما يكون apoE4 هو الشكل الأسوي الموجود، يبقى التاو حراً بالتآثر مع جزيء آخر من التاو، مما يؤدي إلى تشكيل خيوط حلزونية مزدوجة تكون طلائع للكتل المتشابكة الليفية العصبية. كما اقترح أنه يجب أن تتوجه المعالجة النوعية نحو معاكسة التأثيرات السلبية لـ apoE4، وهذا يدفع لابتداء داء ألزهايمر عند الأشخاص المؤهبين حتى عمر 90 سنة.

طفرة (في بعض الحالات) في البروتين APP، متوضعة على الكروموسوم 21

↓

التحلل البروتيني لـ APP، مما يؤدي إلى شدف شاذة تحوي على النشواني ـ بيتا

↓

ترسب النشواني ـ بيتا أو الشدف المحتوية عليه مما يؤدي إلى زيادة مستويات الكالسيوم داخل الخلوي في العصبونات

↓

قد تؤدي زيادة مستويات الكالسيوم إلى تنشيط الكيناز البروتينية التي تفسفت بروتين التاو المرتبط بالنبيبات، مما يتسبب في تشكل الخيوط الحلزونية المزدوجة المشاهدة في الكتل المتشابكة الليفية العصبية

↓

توضع النشواني ـ بيتا والتاو مفرط الفسفتة لعدة سنوات، مما يؤدي إلى تشكل اللويحات والكتل المتشابكة الليفية العصبية

الشكل 64-9 : مخطط افتراضي للتسلسل المحتمل للأحداث المساهمة في بعض حالات داء ألزهايمر. وتوجد طفرات في جين البروتين APP في عدد صغير من الحالات فقط، إلا أن توضع النشواني بيتا وتشكل اللويحات والكتل المتشابكة الليفية العصبية هي علامات واصمة لداء ألزهايمر.

هناك عوامل أخرى متورطة في إحداث داء ألزهايمر:

هناك فرضيات أخرى متعلقة بحدوث داء ألزهايمر. فعلى سبيل المثال، افترض أنه قد يكون ناجماً عن عدوى بڤيروس بطيء مع أنه لم يعزل مثل هذا الڤيروس أبداً. وغالباً ما تحتوي اللويحات لدى المصابين بداء ألزهايمر كميات زائدة من الألمنيوم.

لذلك افترض أن تناول مقادير مرتفعة من الألمنيوم قد يسبب داء ألزهايمر. إلا أنه لم تتضح ما إذا كانت زيادة كميات الألمنيوم تسبب داء ألزهايمر عند بعض الأفراد، أو ما إذا كانت هذه الحالات تعكس زيادة القبط بسبب الأذية الخلوية الناجمة عن بعض العمليات الأخرى. وغالباً ما يظهر في أدمغة المرضى الذين ماتوا بداء ألزهايمر نقص ملحوظ في ناقلة الأسيتيل كولين وكمية الأسيتيل كولين. كما أنه كثيراً ما تكون مستويات النواقل العصبية الأخرى منخفضة. لكن يبدو أن هذه التبدلات ثانوية للأذية الخلوية، وليست أحداثاً أولية تستهل داء ألزهايمر.

هناك أمل كبير في أن تؤدي الأبحاث على الآليات المساهمة في إحداث داء ألزهايمر إلى إيجاد اختبارات تشخيصية مجدية ومعالجة فعالة. أما في الوقت الحاضر، فغالباً ما يوضع التشخيص الحاسم لداء ألزهايمر بكشف اللويحات المميزة عند فتح الجثة.

لا يتوافر دواء نوعي لمعالجة داء ألزهايمر، على الرغم من أنه قد يثبت في نهاية المطاف أنه من الممكن تبديل ترسب النشواني ـ بيتا في النسج بوساطة الأدوية. وتبين أن عامل النمو العصبي المشتق من الدماغ يكون معوزاً في بعض مناطق الدماغ لدى المصابين بداء ألزهايمر، ويمكن أن تكون له فائدة علاجية تخضع للدراسة عند الحيوانات.

ويمكن القول بإيجاز، إنه في حين يلعب النشواني دوراً مركزياً في داء ألزهايمر، لكن ليس واضحاً بعد ما إذا كان توضعه في أغلب الحالات هو الحدث الأولي أو يكون ذلك ثانوياً لظواهر كيميائية حيوية أخرى مختلفة. وقد أدى الاكتشاف مؤخراً للطفرات في جينات غير مرتبطة بتوضع النشواني إلى فتح سبل جديدة للبحث يمكن أن تقود إلى فهم أكثر للآليات المسؤولة عن هذا المرض المأساوي.

الجدول 8-64 : الجينات المساهمة في الأنماط العائلية من داء ألزهايمر [1].

الجين	نمط داء الزهايمر	الكروموسوم	الناتج البروتيني	الوظائف المحتملة
APP	ADI (MIM 104760)	21	APPP	يمكن أن ينبـه انقـسـام الخـلايا والتصـاقـها، وقـد يكون له دور في الإشارة
APOE4	AD2 (MIM 107741)	19	ApoE4	يؤثر في إنتـاج APP، أو توزيعه أو تحرره 2.
PSI	AD3 ابتداء باكر شديد (MIM 104311)	14	البريزينيلين 1	هو بروتين غشائي متمم ، وقد يكون له دور في مرور البـروتينات عبـر الأغشـية والإشــارة والموت الخلوي المبرمج.
PS2	ابتداء باكر (MIM 600759)	1	البريزينيلين 2	شبيه بالبريزينيلن1.

1 – تورث الحالات الأولى والثالثة والرابعة بأسلوب الكروموسوم الجسدي السائد. وتبدي البريزينلينات تماثلاً كبيراً بعضها مع بعض، وتخضع وظائفها للاستقصاء. ويكون APOE4 هو جين الاستعداد. ويمكن أن تترافق الطفرات في الجين A2M المرمِّز للجلوبولين الكبروي ألفا 2 (انظر الفصل 59) بداء ألزهايمر أيضاً . وقد قدر أن الطفرات في الجينات APP وPS1 و SP2 مسؤولة عن أقل من 0.1 ٪ و 1-2 ٪ وأقل من 0.1 ٪ من كافة حالات داء ألزهايمر على الترتيب. و تكون معظم الحالات فردية، تتضمن كلاً من العوامل الوراثية والبيئية. ويعد APOE4 عامل خطورة عند نحو 50٪ من الحالات.

2 – يمكن أن يتآثر Apoε 2 و ε3 بشكل جيد مع البروتينات المرتبطة بالنبيبات الدقيقة أفضل مما يفعل Apoε 4 لذلك تنقص قدرة التاو على الارتباط مع نفسه وتشكيل كتل متشابهة أكثر مما يفعل Apoε 4، ويكن أن يساهم Apoε في تعيين اللدونة المشبكية، وقد يكون Apoε 4 أقل فعالية من Apoε 2 و ε3 في هذه الوظيفة. وقد تسهم كافة البروتينات المدرجة أعلاه في نهاية المطاف في زيادة ترسب النشواني A – بيتا (بزيادة إنتاجه أو نقص تدركه مثلاً).

يمكن أن تساهم عوامل وراثية وعصبية تطورية ودوبامينية الفعل وغيرها في التسبب في الفصام:

تتصف اضطرابات الفصام عادة بأعراض ذهانية تعكس اضطرابات في التفكير والشعور والسلوك. ومن المفيد (انظر فيما بعد) التمييز بين «الأعراض الإيجابية» (مثل الأهلاس والتوهمات والسلوك الغريب) و «الأعراض السلبية» (الانسحاب الاجتماعي، التبلد أو عدم الإحساس الانفعالي،... إلخ). وهناك عدد من الأنماط الفرعية مثل الفصام غير المكتمل (الفند أو خبل البلوغ) والجامودي (الإغماء التخشبي) والزوراني (جنون العظمة). وقد استخدمنا مصطلح الفصام هنا للإشارة إلى مجموعة الاضطرابات.

يحدث الفصام في كل أنحاء العالم. ويصيب نحو 1٪ من سكان أمريكا الشمالية. وتكون البداية عادة في أول الكهولة، وغالباً لدى المراهقين، ويميل سلوك المرض إلى أن يكون مزمناً. ويعد الفصام مشكلة طبية رئيسية، وغالباً ما يكون لها نتائج مدمرة على المصاب وأفراد أسرته. ويشغل مرضى الفصام حتى الوقت الحالي نحو 25٪ من كافة أسرة المستشفيات، رغم توافر معالجة دوائية فعالة نسبياً.

لا يزال سبب أو أسباب الفصام غير معروفة. وقد جرى استقصاء عوامل مختلفة، نفسية واجتماعية وتطورية وبيئية وتشريحية ووراثية وكيميائية حيوية وغيرها. وسنأخذ في الحسبان هنا سبب الصعوبة في تحديد أساس وراثي للفصام، مما يشير إلى وجود شذوذات بنيوية في أدمغة مرضى الفصام يجب الالتفات إليها. وسنناقش فرضية الدوبامين في الفصام، بالإضافة إلى بضعة مواضيع مهمة أخرى.

تعاني دراسات الارتباط الوراثي في الفصام من افتقارها للتنسخ:

أشارت الأساليب المتعددة (مثل القصص العائلية، وتحاليل درجة القرابة، ودراسات التبني، والدراسات على التوائم أحادية الزيجوت وثنائية الزيجوت) إلى

مساهمة وراثية معتبرة في الفصام. فعلى سبيل المثال، يتعرض الطفل المولود لأبوين كلاهما مصاب بالفصام إلى خطر الإصابة بالمرض بنسبة 39 ٪ ويكون التوافق بين التوائم أحادية الزيجوت هو 47 ٪. إلا أن هذه الدراسات لم تشر ما إذا كان الفصام حالة أحادية الجين أم عديدة الجينات أم عديدة العوامل. وإذا كان أحد الاحتمالين الآخيرين صحيحاً فإن البحث عن الأساس الوراثي سيكون عندئذ أكثر تعقيداً.

لقد أدت المحاولات الهادفة إلى تعيين الارتباط بين الجينات التي قد تكون مساهمة في الفصام وكروموسوم معين إلى نتائج متضاربة. كما وردت نتائج متضاربة أيضاً من دراسات الارتباط على اضطرابات نفسية أخرى (مثل الداء الاكتئابي الكبير والاكتئاب الهوسي). ويدرج (الجدول 64-9) بعض التفسيرات المحتملة. وكون أن المرض يحدث في عائلة لا يعني بالضرورة أنه ذو أصل وراثي. فعلى سبيل المثال، يمكن أن تؤدي التأثرات النفسية الضعيفة بين أفراد العائلة إلى نماذج سلوكية شاذة. ويكون أفضل حل لهذه المشكلات في تحليل الارتباط هو الحصول على دراسة لأسر كبيرة عديدة الأجيال تتشارك بعيب جيني مشترك وتبدي أعراضاً متماثلة. وقد أشارت الدراسات المشتركة لهذا النمط الذي يتقدم الآن إلى مناطق من بعض الكروموسومات؛ إلا أنه حتى منتصف 1998 لم تحدد مواضع نوعية على المستوى الجزيئي متورطة بشكل واضح في المرض. أما في حالة الفصام، فمن المحتمل وجود عدد من الجينات المرشحة بأنها متورطة (مثل تلك الخاصة بمستقبلات الدوبامين وللإنزيمات المشاركة في أيض الكاتيوكولامينات) يمكن اختيارها للتحليل والبحث عن الطفرات التي قد تلعب دوراً في الاضطراب، وذلك إلى أن يجري إثبات وجود ارتباط واضح.

* يمكن أن يكون للفصام عدة أسباب (تغاير وراثي).
* لابد من دراسة عائلات كبيرة عديدة الأجيال لزيادة فاعلية تحليل الارتباط.
* أدى ضعف المعايير التشخيصية في مختلف البلدان إلى سوء تشخيص الأقارب نسبياً .
* استخدمت الطرق المنهجية الإحصائية الخاطئة (مثل سوء تطبيق حَرْز لود Lod).
* استخدمت عينات من الدماغ بعد الموت في مختلف حالات الحفظ للتحليل الكيميائي الحيوي (مثل الدوبامين).
* يمكن أن تبدل المعالجة السابقة (مثل مضادات الذهان) الطراز الكيميائي الحيوي لعينات الدماغ المحللة.

الجدول 9-64 : بعض أسباب الصعوبات في تحديد مواضع جينات الفصام (تنطبق معظم النقاط أيضاً على الاضطراب النفسية الأخرى كالاكتئاب والاكتئاب الهوسي).

لوحظت شذوذات بنيوية يمكن أن يكون لها أساس تطوري في أدمغة مرضى الفصام:

لوحظت شذوذات بنيوية في الفص الصدغي الإنسي (التلفيف جانب الحصين والحصين واللوزة) في أدمغة الكثير من مرضى الفصام. وتسهم هذه المناطق في تكامل المعلومات القادمة من القشرة بكاملها ومعالجتها. فعلى سبيل المثال، لوحظ أن تغير اتجاه الخلايا الهرمية الحصينية يمكن أن يعكس نموذجاً معيباً للهجرة العصبونية. وبذلك قد يكون هناك شذوذ وراثي ما يؤثر في الجزيئات المساهمة في هجرة الخلايا أو التصاقها مما يؤدي إلى الموجودات الملاحظة. وقد يؤدي تغير اتجاه الخلايا بدوره إلى تأثيرات ثانوية في مختلف المعايير العصبية الكيميائية. وما يدعم إصابة أدمغة العديد من مرضى الفصام بشذوذات بنيوية هي حقيقة وجود توسع بطيني يلاحظ بشكل شائع، مع أن الاختلاف عن الحالة السوية غالباً ما يكون غير مهم بحيث يكفي لكي تعد هذه الملاحظة تشخيصية.

إن الدوبامين متهم بالاكتناف في الفصام، لكن لم يتأكد هذا الأمر بعد:

لا يوجد عجز في النظريات الكيميائية الحيوية للفصام؛ ففي مراحل مختلفة أشير إلى دور الأسيتيل كولين وحمض جاما أمينوبوتيريك (GABA) والنورإيبينيفرين والأفيونات والببتيدات وجزيئات أخرى كمسببات للفصام. لكن كان الدوبامين على مدى 30 عاماً الماضية هو أكثر العوامل التي حظيت بالانتباه، وقد ظهر ذلك بعد الإدخال الناجح لمضادات الذهان في أوائل الخمسينات من القرن العشرين لمعالجة أمراض الذهان، بما في ذلك الفصام؛ ولوحظ بعد ذلك أن الكثير من مرضى الفصام الذين عولجوا بمضادات الذهان ظهر لديهم داء باركنسون. وهذا يفترض أن مضادات الذهان كانت تعمل على إنقاص مستويات الدوبامين (انظر مناقشة داء باركنسون آنفاً). ويلخص (الجدول 64-10) هذه الملاحظة والموجودات الأخرى التي تدعم تورط الدوبامين في الفصام. وقد افترضت نظرية الدوبامين الأصلية للفصام أن الفصام هو تظاهرة لفرط الفعل الدوباميني، بالمقارنة مع داء باركنسون الذي يمكن أن يعد حالة من نقص الفعل الدوباميني.

تصنف الملاحظات الكيميائية الحيوية المرتبطة بدور الدوبامين في الفصام إلى ثلاثة فئات عموماً:

أ- مستويات الدوبامين في الدماغ: لقد أشار عدد من الباحثين إلى زيادات متباينة في كميات الدوبامين في عينات نسيجية من دماغ المصابين بالفصام.

ب - متأيضات (مستقلبات) الدوبامين: تميل قياسات متأيضات الدوبامين في الدماغ أو سوائل الجسم إلى التأكيد على أهمية حمض الهوموڤانيليك، وهو ناتج الأيض الرئيسي عند الإنسان. حيث لوحظ ارتفاع مستوى هذا المتأيض في السائل النخاعي الشوكي عند المصابين بالفصام، وتنخفض الكمية خلال الاستجابة للمعالجة الدوائية؛ ومع ذلك يلاحظ تفاوت في ذلك أيضاً.

جـ - مستقبلات الدوبامين: قادت قياسات مستقبلات الدوبامين (D) إلى النتيجة الأكثر تماسكاً. حيث يبدو أن مستوى المستقبلات D2 (انظر لاحقاً) يزداد في أدمغة مرضى الفصام، بخاصة الذين لا يستجيبون للدواء. وقد بينت الدراسات أن

القدرات المضادة للذهان لأغلب مضادات الذهان الرئيسية تتعلق بقدراتها على منافسة الدوبامين في المختبر على المستقبلات D2. وتتضمن أسباب التباين في النتائج المذكورة أعلاه استعمال نسج من المريض بعد موته وحقيقة مفادها أن معظم مرضى الفصام قد عولجوا بمضادات الذهان، والتي يمكنها أن تغير مستويات مختلف المستقبلات والإنزيمات في الدماغ (أي بشكل مستقل عن الفصام).

* مضادات الذهان غالباً ما تحرض الباركنسونية مما يفترض بأنها قد تعمل على إنقاص مستويات الدوبامين.
* يبدو أن مضادات الذهان تعمل بشكل رئيسي عبر إنقاص نشاط الدوبامين في العصبونات الدوبامينية الحوفية المتوسطة.
* تحرض أنواع مختلفة من الأدوية الأخرى (مثل الليڤودوبا والأمفيتامين) التي تعمل على أيض الدوبامين (محاكية للدوبامين) علامات الفصام وأعراضه.
* تؤدي المعالجة المديدة بمضادات الذهان إلى هبوط مستويات حمض الهوموڤانيليك في السائل النخاعي (CSF)، وهذا يتعلق عموماً باستجابة إيجابية للمعالجة.
* تتعلق القدرات المضادة للذهان لمعظم مضادات الذهان بارتباطها بمستقبلات D2.
* تشير تحاليل عينات من الجثث واستخدام التصوير الطبقي بقذف البوزيترون في الأحياء، إلى أن كثافة مستقبلات D2 تزداد في أدمغة مرضى الفصام.
* يمكن أن تترافق الأعراض السلبية للفصام مع نقص نشاط الدوبامين في القشرة تحت الجبهية.

الجدول 64-10 : الملاحظات التي تدعم لكن لا تثبت فرضية الدوبامين في الفصام.

لقد تركزت النتائج التي تم التوصل إليها بشأن المستقبلات D2 على مستقبلات الدوبامين بشكل خاص. وقد أمكن حتى هذا التاريخ تمييز خمسة صفوف من هذه المستقبلات بوساطة التنسيل الجيني (الجدول 64-11). ويبدو أن هذه المستقبلات بروتينات عابرة للغشاء؛ وبعضها على الأقل بروتينات سكرية، ويبدو أن معظمها

يقترن بالبروتينات G. ويلاحظ أن المستقبلات D2 و D3 و D4 تماثل بعضها بعضاً. وبصرف النظر عن أهمية المستقبلة D2 المشار إليها سابقاً، فإن أكثر الموجودات أهمية هي وجود خمسة أنواع عديدة الأشكال المستقبلة D4؛ وهذا هو أول مستقبلة في فصيلة الكاتيكولامينات تبين أنه يبدي تبايناً متعدد الأشكال في الإنسان. إلا أنه لم تلاحظ علاقة واضحة بين أي من هذه الأنواع والاستعداد للفصام. ويبدي الكلوزابين (Clozapine)، وهو دواء استخدم على نطاق واسع في معالجة الفصام ـ ألفة تجاه D4 أكبر بعشرة أضعاف من الألفة تجاه المستقبلات D2.

النظريات السببية الأخرى في الفصام:

على ضوء بعض التناقضات في النتائج المذكورة أعلاه، جرى تعديل فرضية الدوبامين الأصلية وافترض أن هناك فعالية شاذة للدوبامين في الفصام على الرغم من أنه غير مفرط بالضرورة. وقد يكون هناك في بعض مناطق الدماغ فعالية دوبامينية الفعل مرتفعة، في حين قد تكون الفعالية منخفضة في بعضها الآخر. وقد دعمت وجهة النظر هذه من خلال ملاحظات أنه قد يكون هناك نقص في فعالية الدوبامين في القشرة قبل الجبهية من الدماغ لدى مرضى الفصام، على الأرجح من خلال علاقة ذلك مع الأعراض السلبية للاضطراب. وتشير دراسات أخرى أنه نظراً لأن العصبونات الدوبامينية قبل الجبهية قد تثبط في الحالة السوية نشاط العصبونات الدوبامينية تحت القشرية، فإن انخفاض الدوبامين في السابقة قد يؤدي إلى ارتفاع الفعالية دوبامينية الفعل في العصبونات تحت القشرية. وتخضع نواقل عصبية أخرى ومستقبلات وجزيئات حيوية في الدماغ للدراسة. وهي تتضمن الأسيتيل كولين والسيروتونين وحمض جاما أمينوبوتيريك والجلوتامين.

ويمكن القول إجمالاً إنه يبدو من المحتمل أن تكون تبدلات الأيض الدوباميني ثانوية (الدخان وليس النار) لظواهر أخرى. إلا أن الإدراك المفصل لمستقبلات الدوبامين قد قاد إلى تحسينات كبيرة في المعالجة الدوائية للفصام. ويؤمل أنه باستخدام مجموعة من الدراسات الوراثية الجزيئية والأساسية للفيزيولوجية العصبية والتطور العصبي لمناطق الدماغ المتأثرة في الفصام، فإنه يمكن من إثبات

الأسس الجزيئية لهذه المجموعة من الحالات في المستقبلة القريب. ويلخص (الجدول 12-64) بعض النقاط الرئيسية فيما يتعلق بالفصام.

توضح المناقشات السابقة أن الكيمياء الحيوية للفصام معقدة. وسوف يساعد إظهار الطفرات التي تلعب دوراً سببياً في الفصام على توضيح دور بعض البروتينات النوعية (مثل المستقبلات والإنزيمات) في المرض، كما ستقدم أيضاً أساليب للمعالجة المنطقية.

* أمكن التعرف على خمسة صفوف رئيسية مختلفة على الأقل (من D1 إلى D5)، مع بعض الأنماط الفرعية المتشكلة بالتضفير البديل.
* هي بروتينات غشائية يكون بعضها على الأقل مرتبطاً بالجليكوزيل.
* يكون لمعظمها سبع مناطق عابرة للغشاء مع عرى هيولية.
* يبدو أن معظمها يقترن بالبروتينات G.
* يقترن بعضها بشكل إيجابي بمُحَلِّقة الأدينيليل (مثل D1) وواحدة منها على الأقل بشكل سلبي (D2).
* يبدو أن نمطاً فرعياً واحداً على الأقل (من أنماط D1) يقترن بالفسفوليباز C.
* يجري تنظيم بعضها على الأقل بالفسفتة
* تعكس الألفة الدوائية لمعظم مضادات الذهان تجاه المستقبلة D2 قدرتها في معالجة الفصام.
* تبدي المستقبلات المختلفة توزعاً تشريحياً مختلفاً.
* يربط المستقبلة D4 مستحضر الكوزابين (مضاد الذهان غير النموذجي) بألفة تزيد عشر مرات على الألفة تجاه مواضع D2.
* أمكن التعرف على خمسة أنماط فرعية منفصلة للمستقبلة D4، وتبين أن العضو الأول في فصيلة الكاتيكولامينات والمستقبلات يبدي تبايناً عديد الأشكال في الإنسان .

الجدول 64-11 : بعض خصائص مستقبلات الدوبامين. تشير التقارير بشكل متكرر إلى مستقبلات جديدة يجري عزلها باستخدام مسابير مناسبة ومكتبات المجين أو مكتبات الدنا المتمم (cDNA).

* هي مجموعة من الاضطرابات وليس وحدة نوعية.
* واسع الانتشار في العالم، حيث يشغل مرضى الفصام نحو 25٪ من أسرة المستشفيات في الولايات المتحدة.
* هناك مكون وراثي مهم لم يتحدد بعد من الناحية الجزيئية؛ ولا بد من عائلات كبيرة عديدة الأجيال ومعايير تشخيصية حاسمة لتسهيل التعقب الجيني.
* تكون التأثيرات البيئية مهمة أيضاً (قبل الولادة وولادية وبعد الولادة).
* هناك اختلافات تشريحية (مثل نقص الحجم والمرضيات الخلوية في بعض مناطق القشرة) يمكن كشفها بالتصوير والدراسات الأخرى.
* قد تسهم في المرض على الأغلب شذوذات في التطور الدماغي.
* لا توجد حالة عصبية تنكسية مزمنة تقليدية (لا يوجد دباق).
* الدورة الزمنية غير العادية (غالباً ما يبدأ المرض في أول الكهولة ويستقر في فترة متأخرة).
* يقع الدوبامين ومستقبلاته في مركز الاهتمام، لكن هذا يطال أيضاً مكونات أخرى كالأسيتيل كولين والسيروتونين و GABA والجلوتامين.
* عموماً هو مجموعة من الاضطرابات البيولوجية المعقدة التي ما تزال أسسها تدرس بتطبيق الأساليب الجزيئية الوراثية والمتممة.

الشكل 12-64 : بعض النقاط الرئيسية المرتبطة بالفصام.

أصبحت التكنولوجيا اللازمة لإثبات الأساس الجزيئي للعديد من الاضطرابات العصبية النفسية في متناول اليد:

لقد سهل استخدام تكنولوجيا الدنا (DNA) المأشوب إثبات الأساس الجزيئي لكل مرض له أصل وراثي. وقد أوضحت الدراسات المجراة على التليف الكيسي (الحالة رقم 7 في الفصل 69) أنه من الممكن البحث بنجاح عن مناطق كبيرة نسبياً من الدنا (DNA) لكشف الجينات الشاذة. وبذلك سوف يكون من الممكن في غضون العقد اللاحق تحديد الأساس الجزيئي لمعظم الاضطرابات العصية النفسية ذات الأساس الوراثي. وقد حدث تقدم مهم الآن فيما يتعلق باضطرابات لم تناقش هنا.

فعلى سبيل المثال، تبين أن طفرات في الجينات المرمزة للرودوبسين والبيريفيرين والوحيدة ـ بيتا من الفُسفودَايستراز في الخلايا العصوية (كلها بروتينات تساهم في الرؤية) مسؤولة عن الأشكال المختلفة من التهاب الشبكية الصباغي، وهو سبب شائع نسبياً للعمى.

لقد أصبحت المعالجة الجينية للاضطرابات العصبية مستخدمة الآن. فعلى سبيل المثال، يمكن استعمال التصويب الفراغي الموجه بالتصوير بالرنين المغناطيسي (MRI) لحقن أرومات ليفية تحمل ناقل جرثومي للڤيروس القهقري تحوي جين كيناز الثيميدين لڤيروس الهربس البسيط، وذلك في الأورام الدماغية البشرية غير القابلة للجراحة. ويقوم الڤيروس القهقري بإعداء الخلايا الورمية المجاورة، مدخلاً بذلك جين كيناز التيروزين وجاعلاً الخلايا الورمية المتقدمة حساسة لعقار الجانسيكلوڤير (Ganciclovir)؛ أما الخلايا السوية فلا تتأثر بهذا المركب. ويدعى هذا الأسلوب المبتكر «الجراحة الجزيئية».

الخلاصة:

تعد مستقبلات الأسيتيل كولين في الموصل العصبي العضلي قنوات أيونية مبوبة بالنواقل. وفي الوهن العضلي الوبيل، تتشكل أضداد ذاتية ضد هذه المستقبلات تؤدي لأذية الكثير منها. ويتظاهر ذلك بهجمات دورية من الضعف العضلي. وتكون الأدوية التي تثبط إسترار الكولين فعالة، لكن ينبغي كبت الاستجابة المناعية الشاذة بالتدابير المناسبة غالباً.

يتوضع جين داء هنتنجتون على الذراع القصير من الكروموسوم 4. وهو يرمز بروتيناً (الهنتنجتين) ما تزال وظيفته غير معروفة. ويبدي الأشخاص الأسوياء منا 10 إلى 30 تكراراً للنوكليوتيد الثلاثي CAG قرب النهاية ´5 من المنطقة المرمزة في الجين، في حين يبدي المصابون بداء هنتنجتون 38-120 تكراراً لـ CAG. وتخضع أدوار الموت الخلوي المبرمج وتكدس البروتين داخل الخلايا للاستقصاء كمسبب لداء هنتنجتون.

إن الآلية الأخرى للأذية الخلوية والموت الخلوي التي قد تعمل في داء هنتنجتون والسكتات وبعض الأمراض العصبية الأخرى، هي استثارة الصف NMDA من مستقبلات الجلوتامات. وينبغي أن يؤدي توضيح هذا والآليات الكيميائية الحيوية الأخرى للأذية الخلوية الدماغية إلى معالجة أنجع للحالات العصبية النفسية التي تكون الأذية الخلوية مظهراً فيها.

لقد أمكن سلْسَلَة الدنا المتقدري (mtDNA) البشري، ومن المعروف أنه يرمز جزيئات الرنا (RNA) المتقدري الريباسي و الرنا النقال (tRNA) المتقدري و 13 عديد ببتيد في السلسلة التنفسية. وقد اكتشفت أخْبان وتضاعفات وطفرات نقطية في الدنا المتقدري (mtDNA)، وتبين أنها تسبب حالات مختلفة من الاعتلالات العضلية والاضطرابات العصبية وبعض حالات الداء السكري. وتنتقل الأمراض المتقدرية بالوراثة الأمومية.

تسبب التوسعات في التكرار ثلاثي النوكليوتيد متلازمة الكروموسوم X الهش والضمور العضلي النخاعي البصري وداء هنتنجتون وعدداً من الاضطرابات العصبية الأخرى. وسهل استخدام التكنولوجيا التي تكشف هذه الطفرات تشخيص هذه الأمراض والحالات الأخرى المحتملة ذات الصلة.

ينجم داء باركنسون عن تنكس خلايا المادة السوداء مما يؤدي إلى عوز الدوبامين في الجملة المخططة السوداء. ويبدو أن سبباً وراثياً (مثل طفرات الجين المُرمِّز للبروتين سينوكلين ــ ألفا أو ربما في الجينات المرمزة لمكونات المعقد I في السلسلة التنفسية) يسهم في بعض الحالات العائلية على الأقل. كما قد تساهم التأثيرات السمية الناتجة عن الجذور الحرة كأكسيد النتريك في التسبب بالأذية الخلوية في المادة السوداء. ويكون الليفودوبا علاجاً فعالاً في المراحل الباكرة من المرض على الأقل.

تعد اللويحات النشوانية والكتل المتشابكة العصبية الليفية من الملامح الرئيسية لداء ألزهايمر. وتفترض نظرية شلال النشواني أن توضع بروتين النشواني ــ بيتا المشتق من الطليعة البروتينية للنشواني هو المسبب للمرض، وأن بروتين النشواني ــ

بيتا أو شدفه سامة عصبيا ومسؤولة عن العناصر الليفية والملامح الأخرى. إلا أنه لم يتضح ما إذا كان توضع البروتين النشواني ـ بيتا ثانوياً في معظم الحالات الأخرى. ولقد تبين أن طفرات في الجينات المرمزة للبروتين الطليعي للنشواني والبريزينيلينات 1و 2 تساهم في بعض الأنماط العائلية لداء ألزهايمر. وقد وجد أن *APOE4* هو جين استعداد مهم لداء ألزهايمر الذي يبدأ متأخراً.

لقد أدى إدخال مضادات الذهان في معالجة حالات الذهان إلى دليل على أن الدوبامين هو المتهم في التسبب بالفصام. وقد دعمت بعض المعلومات هذه النظرية لكنها ما تزال غير مثبتة. كما قاد تنسيل مستقبلات الدوبامين إلى التعرف على خمسة صفوف منها، ويظهر الصف D4 تعدد أشكال واضح. وما تزال الأبحاث المكثفة جارية في محاولة لإيجاد الأسباب الرئيسية للفصام.

تتوافر تكنولوجيا لإيضاح الأسس الجزيئية لمعظم الاضطرابات العصبية النفسية الوراثية، إن لم يكن لها جميعاً. وفي الواقع، حدث تقدم مهم فيما يخص الحالات المناقشة في هذا الفصل والحالات غير المذكورة. ويجري حالياً تطوير معالجات نوعية معينة بمعاكسة بعض العمليات كالموت الخلوي المبرمج غير الملائم وتكدس البروتين داخل الخلية وإنتاج السموم المهيجة وفرط الجذور الحرة.

*** Referencse:**

Barondes SH et al: Workshop on schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94;1612.

Barkats M et al: Adenovirus in the brain: Recent advances in gene therapy for neurodegenerative diseases, *Progr Neurobiol* 1998;55;333.

Clayton DF, George JM: The synucleins: A family of proteins involved in synaptic function, Plasticity, neurodegeneration and diseases. *Trends Neurosci* 1998;21:249.

Cooper JR et al: *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*. 7th ed. Oxford Univ Press, 1996.

Drachman DB: Myasthenia gravis. *N Engl J Med* 1994:330:1797.

Fisher M: *Stroke Therapy*. Butterworth-Heinemann, 1995.

Fraser PE.St george-Hyslop PH: Mutations in three genes are associated with early onset Alzheimer's disease. In: *The Molecular Biology of Alzheimer's Disease*. Haass C (editor). Howard Academic Publishers. 1999.]

Michaelis EK: Molecular biology of glutamate receptors in the central nervous system and their role in excitotoxicity. Oxidative stress and aging. *Progr Neurobiol* 1997;52;447.

Scherzinger E et al: Huntingtin-encoded polygutamine expansions from amyloid-like protein aggregates in vitro and in vivo. *Cell* 1997;90;549.

Seeman P: Dopramine receptors and psychosis. *Sci Med* 1995 (Sept/Oct);28.

Wallace DC: Mitochondrial DNA in aging and disease. *Sci Am* 1997 (Aug);277;40.

Wells RD: Triplet repeat diseases in man, microbes and molecules. *Am J Psychiatry* 1997;154;887.

Yeh TH: Life and death of the cell. *Hosp Pract (Off Ed)* 1998 Aug;336:1575.

Youdim MDH, Riederer P: Understanding Parkinson's disease. *Sci Am* 1997 (Jan);276:52.

الفصل الخامس والستون

قصص لحالات كيميائية حيوية

Biochemical Case Histories

مقدمة:

سنناقش في هذا الفصل الأخير عشر قصص لحالات مرضية توضح أهمية معرفة الكيمياء الحيوية في فهم الأمراض. وتغطي الحالات المختارة أسباب المرض المدرجة في (الجدول 1-1)، وتشمل ثلاثة أمثلة الأمراض المصنفة على أنها وراثية (الحثل العضلي من نمط دوشين والتليف الكيسي وداء ترسب الأصبغة الدموية). والتصنيف المستخدم في (الجدول 1-1) هو مجرد اتفاق لأن بعض الحالات تنتمي إلى أكثر من صف؛ مثل جفاف الجلد المصطبغ (يصنف هنا على أنه فيزيائي) مع أنه مرض وراثي. ولم تصنف العوامل الوراثية المساهمة في بعض الأمراض المذكورة هنا على أنها وراثية (مثل احتشاء عضلة القلب والداء السكري من النمط الأول). ويمكن توسيع قائمة الأسباب في (الجدول 1-1) على سبيل المثال لتشمل الأسباب «الورمية» «والنفسية». كما يمكن وضع أسباب الأورام تحت قائمة الأسباب الفيزيائية (السرطان الناجم عن التشعيع) أو البيولوجية (في ضوء دور الڤيروسات الورمية في إحداث بعض أنماط السرطان) أو الكيميائية (يبدو أن نحو 80٪ من الأورام البشرية تعود لأسباب كيميائية). أما فيما يتعلق بالأمراض النفسية فقد ازداد مؤخراً الاهتمام بفكرة أن يكون لبعض حالات الفصام على الأقل (الفصل 64) أساس وراثي. ومعظم الأمراض الموصوفة هنا شائعة أو شائعة نسبياً بالمعنى العام باستثناء مرضين نادرين نسبياً هما جفاف الجلد المصطبغ وداء العوز المناعي المشترك الوخيم الناجم عن عوز ADA، وقد أدرجا هنا لأنهما يوضحان جيداً صف

الأمراض الذي نسبا إليه، ولأنهما يوضحان أيضاً مبدأين بيولوجيين: أهمية تصليح الدنا (DNA) وأهمية الجهاز المناعي كآليات وقائية. كما أن عوز ADA هو أول مرض تحققت معالجته الجينية عند الإنسان. ويجب أن نلاحظ هنا أن القيم المرجعية المذكورة في الحالات المدرجة في هذا الفصل ليست بالضرورة نفسها المذكورة في الملحق. ويعود ذلك إلى أن القيم المرجعية يمكن أن تختلف بين المختبرات بعض الشيء تبعاً (ولو جزئياً) لاختلاف الطرائق والمنهجيات المتبعة.

الحالة الأولى: جفاف الجلد المصطبغ (Xeroderma pigmentosum):

السَّبَبِيَات:

فيزيائية، التعرض للإشعاع فوق البنفسجي (UV).

القصة المرضية والفحص السريري:

حضر ولد عمره 12 سنة إلى عيادة أمراض الجلد بورم جلدي على وجنته اليمنى. وقد كان على الدوام يتجنب التعرض لأشعة الشمس لأنها تؤدي إلى ظهور بثرات على جلده. وقد لوحظ على جلده مناطق مبعثرة من فرط الاصطباغ ومناطق أخرى بدت ضامرة قليلاً. وبسبب وجود ورم جلدي في مثل هذا العمر الصغير وقصة تجنب التعرض للشمس والآفات الجلدية الخفيفة الأخرى، وضع طبيب الأمراض الجلدية تشخيصاً افتراضياً هو جفاف الجلد المصطبغ (Xeroderma pigmentosum).

الموجودات المختبرية:

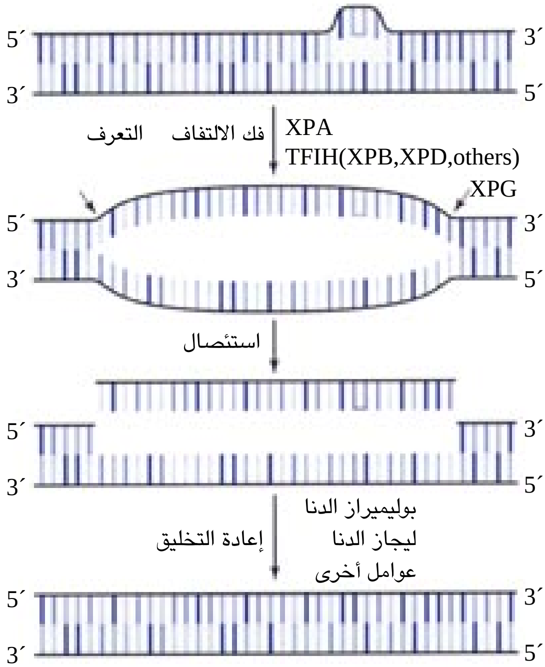
أظهر الفحص النسيجي للورم المستأصل أنه سرطانة وسفية (نمط شائع من سرطان الجلد في المسنين وليس لدى طفل بهذا العمر). وقد أخذت عينة من الجلد لتحضير الأرومات الليفية. ويوجد في المستشفى مختبر أبحاث متخصص

بالبيولوجيا الشعاعية ومجهز لقياس كمية مثنويات الثيمين المتشكلة بعد التعرض للضوء فوق البنفسجي. وتم في هذا المختبر تعريض الأرومات الليفية المأخوذة من المريض وأرومات ليفية شاهدة للضوء فوق البنفسجي، وأخذت عينات خلوية بفواصل 8 ساعات وحتى 32 ساعة إجمالاً بعد التشعيع، وحضرت خلاصات من الدنا (DNA) وعينت أعداد المثنويات الباقية في كل نهاية فترة زمنية. وفي حين أن المستخلص من الخلايا(DNA) ٪ من المثنويات المتشكلة فقط بقيت في الدنا 24 السوية بعد 32 ساعة، وجد نحو 95٪ منها في الخلاصة المأخوذة من خلايا المريض بعد 32 ساعة؛ وهذا ما يثبت تشخيص جفاف الجلد المصطبغ.

المناقشة:

جفاف الجلد المصطبغ يورث بصفة جسدية متنحية، وهو حالة نادرة تختل فيها آليات تصليح الدنا (DNA) المتأذي بالإشعاع فوق البنفسجي. ويحدث هذا بسبب طفرات في الجينات المُرَمِّزة للمكونات المساهمة في استئصال النوكليوتيد ضمن سبيل تصليح الدنا. والأذية الرئيسية التي يحدثها الإشعاع فوق البنفسجي في الدنا (DNA) هي تشكيل مثنويات الثيمين، حيث تتشكل الروابط التساهمية بين الكربونات خمسة وستة من ثمالة ثيمين في أحد طيقان الدنا والكربونات خمسة وستة من ثمالة ثيمين في الطاق الآخر. كما قد تحدث أنماط أخرى من الأذية. وقد أجريت دراسات مفصلة على العمليات المساهمة في نزع المثنويات البيريميدينية؛ ففي الإشريكية القولونية، يحدث التشطر الحال للنوكليوتيد الداخلي المُحَفَّز بنوكلياز داخلية نوعية للإشعاع فوق البنفسجي على جهتي الأذية مما يؤدي إلى تحرير قليل نوكليوتيد بطول 12-13 أساس. وتشمل خطوة البلمرة بوليميراز الدنا (DNA) (ألفا أو دلتا، وربما مع بيتا أيضاً)، وتكون الخطوة النهائية هي السد بواسطة ليجاز الدنا (DNA). ويدعى هذا السبيل التصليح باستئصال النوكليوتيد NER، وهو يعمل في البشر أيضاً لكن تفاصيله لم تتضح بعد. ويبدو أنه مماثل عموماً للسبيل في الإشريكية القولونية. ويتمثل أكثر الفروق بينهما وضوحاً في أنه يجري استئصال قليل نوكليوتيد أطول بكثير (نحو 30 أساساً) في الإنسان. ويعرض (الشكل 65-1) مخططاً مبسطاً للخطوات الأولية في المسلك البشري. وقد أشير إلى

وجود سبعة جينات على الأقل تساهم في سبيل NER في البشر (تُرمِّز XPA وحتى XPG؛ ولا يظهر XPC في (الشكل 65-1)، لأن وظيفته ما تزال قيد الدرس). ويمكن أن تؤدي الطفرات في أي من هذه الجينات إلى جفاف الجلد المصطبغ.



الشكل 65-1 : مخطط مبسط لسبيل التصليح باستئصال النوكليوتيد المساهم في تصليح الأذية الجلدية بالإشعاع فوق البنفسجي. ويظهر فيه موضع الأذية بالانتفاخ (موضع مثنويات الثيمين داخل السلسلة) في الطاق العلوي من الدنا (DNA).
ويتعرف البروتين XPA على موضع الأذية ويرتبط به. وأما XPB و XPD فهما من إنزيمات الهيليكاز ويقومان بفك التفاف الحلزون المضاعف قبل الاستئصال. ويقوم XPF و ERRC1 بالقطع عند الجهة 5´ من الآفة، ويقطع XPG عند النهاية 3´. وهكذا تنزع شدفة بطول نحو 30 أساساً ويملأ مكانها بوليميراز الدنا (DNA) بتخليق السلسلة الصحيحة التي تربط مع الأصل بواسطة ليجاز الدنا (DNA) والطفرات في الجينات المرمزة لمختلف البروتينات المساهمة في هذه العملية هي السبب في جفاف الجلد المصطبغ، فعندما تفقد هذه البروتينات وظيفتها يصبح التصليح معيباً مما يؤدي إلى طفرات قد تقود إلى سرطان الجلد.

لقد تم إيضاح مساهمة هذه الجينات عندما لوحظ أن استنبات الخلايا المزروعة من أشخاص مصابين بجفاف الجلد المصطبغ مع خلايا من أفراد آخرين مصابين بالمرض يؤدي إلى تصحيح العيب في تصليح الدنا (DNA) أحياناً. وهذا ما يشير إلى أن إحدى مجموعات الخلايا قد قدمت ناتج الجين السوي إلى الأخرى فصحح العيب. وبهذا الأسلوب، أمكن التعرف على سبع مجموعات متتامة على الأقل توافق الجينات السبعة ونواتجها البروتينية المذكورة آنفاً.

إذا لم يجر تصحيح الأذية الناجمة عن الإشعاع فوق البنفسجي، تحدث الطفرات في الدنا (DNA) وتؤدي إلى السرطان؛ وغالباً ما يعاني المصابون من جفاف الجلد المصطبغ من ضروب مختلفة من السرطانات الجلدية في عمر مبكر. ويلخص (الشكل 65-2|) الآليات المساهمة في إحداث هذا الداء. وتجب هنا إعادة التذكير بأن الطفرات في سبيل آخر لتصليح الدنا (DNA)، أي تصليح سوء الازدواج، تساهم في إحداث نمط آخر من السرطان هو سرطان القولون غير السليلي الوراثي (الفصل 62). وقد أخبر والدا هذا الطفل بأنه تجب مراقبته طوال حياته لرصد ظهور سرطانات جلدية جديدة، كما نصحا بمتابعة تجنب أشعة الشمس واستعمال المراهم المناسبة الواقية من الشمس.

ومع أن جفاف الجلد المصطبغ اضطراب نادر، إلا أن وجود ضروب مختلفة من آليات تصليح الدنا (DNA) بعد التعرض لأنماط مختلفة من التشعيع والأذيات الكيميائية يكتسب أهمية وقائية كبيرة؛ فمن دونه تكون الحياة على هذا الكوكب أكثر خطراً مما هي حقيقة الآن! فعلى سبيل المثال، لقد قدر بأن احتمال السرطان في المصابين بجفاف الجلد المصطبغ أكثر بنحو ألف ضعف مقارنة مع الأفراد الأسوياء.

يسبب التعرض للإشعاع فوق البنفسجي تشكيل مثنويات الثيمين في الخلايا الجلدية (الخلايا القرنية)

↓

لا تستأصل مثنويات الثيمين بسبب الطفرات في الجينات المرمزة لمكونات سبيل التصليح باستئصال النوكليوتيد

↓

تستمر أذية الدنا (DNA)؛ ويقود التنسخ إلى تخليق دنا (DNA) يحتوي على الطفرات

↓

يتوسط الدنا (DNA) الطافر التكون السرطاني (ربما بتنشيط الجينات الورمية)

↓

قد تحدث أورام جلدية عديدة

الشكل 65-2 : ملخص الآليات المساهمة في إحداث جفاف الجلد المصطبغ.
(MIM 278709-278780)

الحالة الثانية: الكواشيوركور (Kwashiorkor):

السَّبَبِيَات:

تغذوية: عوز البروتين.

القصة المرضية والفحص السريري:

حضرت فتاة عمرها سنتان مع أمها من بلد نام إلى العيادات الخارجية في المستشفى المحلي. وكان لدى أمها أربعة أطفال، أصغرهم بعمر 3 أشهر وما يزال يرضع الحليب. وأما الوالد فقد كُسرت ساقه بحادث خلال السنة السابقة، ولم يعد

قادراً على العمل، وأصبح دخل الأسرة منخفضاً، ومن غير الممكن شراء الحليب واللحم بشكل منتظم. وكان القوت الرئيسي للأسرة هو النشا الغني بالسكريات والفقير بالبروتين. وقد ذكرت الأم أن ابنتها لا تأكل جيداً منذ الشهر الماضي، وقد عانت من إسهال متقطع لبعض الوقت وأصيبت حديثاً بسعال وحمى، وأصبحت سريعة التهيج ولا مبالية وفاترة الشعور.

وجد بالفحص السريري أن الفتاة دون الوزن السوي بالنسبة لطولها وصغيرة بالنسبة لعمرها. وقد بدت شاحبة وضعيفة جداً وفي حالة وسن. وكانت درجة حرارتها 40.5ْ م. وقد كان محيط منتصف الذراع لديها دون الحد السوي أيضاً، مما يتفق مع سوء التغذية ناقصة البروتين والطاقة. وبدا الجلد متجعداً والشعر جافاً و قصفاً، وظهر البطن متمدداً مع ضخامة معتدلة في الكبد. ولوحظت وذمة معممة واضحة، كما سمعت خراخر فوق الفص السفلي من الرئة اليسرى. ونتيجة لذلك، وضع الطبيب الموجود الاحتمالات التشخيصية التالية: الكواشيوركور والإسهال وذات الرئة وربما تجرثم الدم.

الموجودات المختبرية:

أخذت عينات من الدم للتحليل. وكانت النتائج كما يلي: الهيموجلوبين 6 جرام/100 مل (السوي بعمر السنتين هو 11-14) وبروتين المصل الإجمالي 4.4 ج/100مل (السوي 6-8) والألبومين 2ج/100مل (السوي 3.5-5.5). كما أخذت عينات من البراز والدم للزرع، وظهرت اللاهوائيات سلبية الجرام في كليهما. وكان تعداد الكريات البيض 18000/مكل. وأظهرت صورة الصدر الشعاعية كثافات موضعة في الفص السفلي من الرئة اليسرى تتماشى مع ذات الرئة والقصبات الحادة.

المعالجة:

من المفضل في الكثير من الحالات عدم معالجة المصابين بسوء التغذية الطاقي البروتيني الخفيف والمعتدل في المستشفى، لأن ذلك لا يزيد إلا من فرصة العدوى. ولكن في ضوء وجود الحمى والوسن والوذمة الشديدة، يجب إدخال هذه الطفلة

والبدء مباشرة بإعطاء مضاد حيوي واسع الطيف وتسريب المحلول الملحي النظامي والدكستروز وريدياً. ولكن تفاقمت حالة الطفلة بشكل محزن وماتت بعد نحو 12 ساعة من الدخول. وقد أظهر فتح الجثة تشحماً كبدياً شديداً والتهاب القصبات والرئة.

	الكواشيوركور	السغل
الوذمة	موجودة	غائبة
نقص ألبومين الدم	موجود، وقد يكون شديداً	خفيف
الكبد الدهنية	موجودة	غائبة
مستوى الإنسولين	مصون	ناقص
مستوى الكورتيزون	سوي	مرتفع
الضمور العضلي	غائب أو خفيف	قد يكون شديداً جداً
شحوم الجسم	ناقصة	غائبة

الجدول 65-1 : الفوارق بين الكواشيوركور والسغل (Marasmus).

المناقشة:

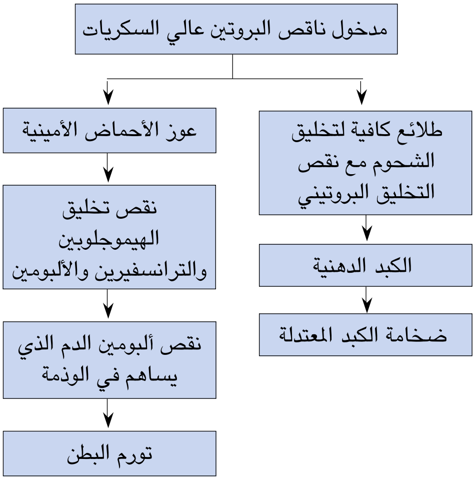
يعد عوز التغذية البروتيني الطاقي الاضطراب التغذوي الأكثر شيوعاً في الكثير من أجزاء العالم؛ حيث أن ما يصل إلى زهاء بليون من الناس يعانون من درجات مختلفة من سوء التغذية بالبروتين والطاقة بدرجات متفاوتة. ويعد الكواشيوركور نهاية الطيف الذي تكون فيه الميزة الأساسية هي عوز البروتين مع مدخول (Intake) كاف نسبياً من الطاقة. أما السغل (Marasmus) فيقع على الطرف الآخر، وينجم عن نقص شديد ومديد ليس في البروتين فحسب، بل في كافة أشكال الطعام. وتحدث خسارة جسيمة في العضل والشحم في المصابين بالسغل. كما يحدث القهم في الكواشيوركور مما يؤدي إلى المزيد من تحديد مدخول الطعام. وتدعى الأشكال المتوسطة باسم الكواشيوركور السغلي. ويدرج (الجدول 65-1) الفوارق الأساسية

بين الكواشيوركور والسغل. والعلامات الواصمة للكواشيوركور هي نقص ألبومين الدم والوذمة (Edema) والكبد الدهنية (Fatty liver) ويعكس نقص ألبومين الدم نقص الإمداد بالأحماض الأمينية المشتقة من البروتينات مما يؤدي إلى اضطراب تخليق الألبومين والبروتينات الأخرى (مثل الترانسفيرين) من قبل الكبد. وتنجم الوذمة، جزئياً على الأقل، عن نقص الضغط الجرمي في البلازما بسبب نقص ألبومين الدم (الفصل 65). كما ينقص تخليق الكبد لبروتينات البلازما مما يؤدي بدوره إلى اضطراب نقل ثلاثيات الجليسيريد والشحميات الأخرى من الكبد، ويقود إلى تشحمه (الكبد الدهنية).

الكواشيوركور هي الكلمة التي يستخدمها أفراد قبيلة «جا» (Ga) في غانا لوصف «المرض الذي يعاني منه الطفل السابق عندما يولد طفل جديد». وهو يتلو الفطام عن حليب الثدي والتعرض لقوت فقير بالبروتين وغني بالسكريات. وتنجم الوذمة وضعف الجلد والشعر والكبد الدهنية المشاهدة في الكواشيوركور بشكل رئيسي عن عوز البروتين؛ وغالباً ما تترافق أعواز الڤيتامينات والمعادن مع الكواشيوركور. والهرمونات هامة في توليد سوء التغذية بالبروتين والطاقة؛ حيث يؤدي التعرض لمدخول مرتفع من السكريات إلى الإبقاء على مستويات الأنسولين مرتفعة ومستويات الإيبينيفرين والكورتيزول منخفضة عند مرضى الكواشيوركور، على النقيض من السغل. فنقص الإنسولين مع ارتفاع الكورتيزول في الأخير يمنح فرصة أكبر لتقويض العضل (لذلك يكون الضمور العضلي في السغل أكبر منه في الكواشيوركور). كما أنه بسبب نقص مستويات الإيبينيفرين، لا تتحرك الشحوم بالدرجة نفسها في الكواشيوركور. ويؤدي نقص مدخول البروتين من القوت إلى نقص تخليق بروتينات البلازما، لا سيما الألبومين والترانسفيرين، ونقص تخليق الهيموجلوبين أيضاً. ويؤدي اضطراب التخليق البروتيني في الكبد مع وجود ما يكفي من السكريات القوتية لضمان تخليق الشحوم إلى تراكم الجليسريدات الثلاثية في الكبد (الكبد الدهنية). ويضطرب الجهاز المناعي في سوء التغذية بالبروتين والطاقة، لاسيما وظيفة الخلايا التائية. وبذلك يكون المصابون أكثر استعداداً للعداوى (مثل حدوث الإسهال) التي تفاقم من سوء حالة المصاب بتحميله

المزيد من الحاجة الأيضية في الجسم، مثل ما تتطلبه الحمى، ويلخص (الشكل 3-65) بعض الآليات المساهمة في إحداث الكواشيوركور.

يمكن منع حدوث الكواشيوركور نهائياً إذا أعطي الأطفال قوتاً متوازناً يحتوي على مقادير كافية من البروتين والأحماض الأمينية الأساسية.



الشكل 3-65 : ملخص بعض الآليات المساهمة في إحداث الكواشيوركور.

الحالة الثالثة: الكوليرا (Cholera):

السَّبَبِيَات:

بيولوجية، جرثومية.

القصة المرضية والفحص السريري:

بدأت طالبة تعمل في بلد نام عمرها 21 سنة تعاني فجأة من إسهال مائي غزير، مستمر تقريباً، وقيء. ثم تراجعت حالتها العامة بسرعة، فذهبت إلى مستشفى القرية المحلي. وكانت عند القبول بحالة زُراق مع نقص الثنية الجلدية، وكان ضغط

الدم 50/70 مم. زئبق (السوي 120-80 مم. زئبق) كما كان نبضها سريعاً وضعيفاً، وقد شخص الطبيب الموجود إصابتها بالكوليرا وأخذ عينة من البراز للزرع، وبدأ المعالجة فوراً.

المعالجة:

اشتملت المعالجة على إعطاء محلول وريدي مركب في المستشفى يحتوي على5 ج من كلوريد الصوديوم و 4 ج من بيكربونات الصوديوم $NaHCO_3$ و 1 ج من كلوريد البوتاسيوم في كل لتر من الماء المقطر الخالي من مولدات الحمى (Pyrogenic). وقد أعطي هذا المحلول في البداية بمعدل سريع (100مل/كجم) أصبح ضغط الدم سوياً والنبض قوياً؛ كما أعطي التتراسكلين للفتاة. وفي اليوم الثاني، أصبحت الفتاة قادرة على تناول محلول التجفاف الفموي الذي توصي به منظمة الصحة العالمية (WHO) لمعالجة الكوليرا وهو يتركب من 20 ج من الجلوكوز و 3.5 ج من كلوريد الصوديوم و 2.5 ج من بيكربونات الصوديوم و 1.5 ج من كلوريد البوتاسيوم في كل لتر من ماء الشرب. وأعيد إعطاء الطعام الصلب في اليوم الرابع من القبول. واستمرت الفتاة بالتحسن سريعاً، وأخرجت من المستشفى بعد 7 أيام.

المناقشة:

الكوليرا هي مرض معد هام متوطن في بعض البلدان الآسيوية وفي أجزاء أخرى من العالم. وينجم عن ضمة الكوليرا، وهي جرثومة تفرز بروتيناً يدعى الذيفان المعوي. ويتكون الذيفان المعوي من وحيدة A واحدة (مكونة من ببتيد A_1 وآخر A_2 مرتبطين برابط ثنائي السلفيد) وخمس وحيدات B، وتبلغ كتلته الجزيئية نحو 84 ك. دالتون، ويرتبط في الأمعاء الدقيقة بواسطة الوحيدات B إلى الجانجليوزيد G_{M1} (الشكل 16-19) الموجود في الغشاء البلازمي لخلايا المخاطية المعوية؛ ثم تنفصل الوحيدة A ويعبر الببتيد A_1 الوجه الداخلي للغشاء البلازمي. ويقوم الذيفان بتحفيز إضافة ريبوزيل ثنائي فسفات الأدينوزين -ADP)

(Ribosylation) باستعمال NAD^+ كمانح) للبروتين التنظيمي G_s. يقود هذا إلى تثبيط نشاط الجتباز (GTPase) وتثبيت البروتين G_s بشكله الفاعل فتصبح محلقة الأدينيليل منشطة باستمرار (الفصل 44)؛ وهذا ما يؤدي إلى زيادة الأمب الحلقي (cAMP) الذي يعتقد أنه ينشط كيناز بروتينياً تُفسفت واحداً أو أكثر من البروتينات المساهمة في النقل الفاعل (Active). وتكون نتيجة هذه السلسلة من الأحداث تثبيط امتصاص كلور الصوديوم إلى الخلايا المعوية بجملة النقل المشارك المتعادلة لكلوريد الصوديوم وتنبيه إفراز أيون الكلوريد بشكل فاعل. وتقود هذه الأحداث إلى إفراز كبير لأيونات الصوديوم والماء نحو تجويف الأمعاء الدقيقة مما يفضي إلى الإسهال المائي الغزير المميِّز للكوليرا. وتبقى البنية النسيجية للأمعاء الدقيقة سليمة بشكل واضح، رغم عدم تدفق أيونات الصوديوم والماء (وأيونات الكلور والبيكربونات والبوتاسيوم أيضاً).

إن خسارة هذه المقومات هي التي تقود إلى ضياع شديد في السوائل وإلى نقص حجم الدم والحُماض ونفاذ أيونات البوتاسيوم، الملامح التي توجد في الحالات الخطيرة من الكوليرا والتي قد تكون مميتة ما لم نبدأ بالمعالجة التعويضية المناسبة فوراً (كما هو مذكور أعلاه). ويلخص (الشكل 4-65) الآليات المساهمة في إحداث إسهال الكوليرا. وقد قاد التوصل إلى السوائل التعويضية المناسبة وتوفرها السهل (كمحلول الإماهة الفموي) إلى تحسن هائل في معالجة الكوليرا. وينبغي التأكيد على أن الجلوكوز هو مكون أساسي في محلول الإماهة الفموي (ORS)؛ ففي حين يثبط ذيفان الكوليرا امتصاص كلوريد الصوديوم من الخلايا المعوية، فإنه لا يثبط نقل أيون الصوديوم الميسر بالجلوكوز إلى هذه الخلايا.

تناول الضمة الكوليرية *V.cholerae*

↓

تحرير الذيفان المعوي (الذي يحوي الوحيدات A_1 و A_2 و B) في الأمعاء الدقيقة

↓

ارتباط الذيفان المعوي بالجانجليوزيد GM_1

↓

تحرير الوحيدة A_1 التي تعبر الغشاء البلازمي لخلايا المخاطية المعوية

↓

تحفز الوحيدة A_1 ضم ريبوزيل –ADP للبروتين Gs في الغشاء البلازمي مع خسارة فعالية الجتباز (GTPase) الخاص به

↓

تنشيط متواصل لمحلّقة الأدينيليل

↓

زيادة مستوى الأمب الحلقي (cAMP) في خلايا المخاطية المعوية

↓

تنشيط واحدة أو أكثر من كينازات البروتين المعتمدة على الأمب الحلقي، مما يؤدي إلى تبدل في جمل النقل في هذه الخلايا بواسطة فسفتة بعض بروتينات النقل

↓

خسارة كبيرة لكل من أيونات الصوديوم والكلور والبيكربونات والبوتاسيوم والماء

الشكل 4-65 : ملخص للآليات التي تؤدي إلى حدوث الإسهال في الكوليرا.

الحالة الرابعة: احتشاء عضلة القلب (Myocardial Infarction):

السَّبَبِيات:

نقص الأكسجين.

القصة المرضية والفحص السريري:

قبل رجل أعمال عمره 46 سنة في قسم الطوارئ في المستشفى المحلي، وهو يعاني من ألم شديد خلف القص منذ ساعتين. وقد سبق أن أدخل إلى المستشفى مرة واحدة لمعالجة احتشاء صغير في عضل القلب، لكنه استمر في التدخين بكثرة. وكان ضغطه الدموي 150/90 مم زئبق (كان ضغطه السوي 140/80 مم زئبق) ونبضه 60/الدقيقة وكان يتعرق بغزارة. ولم تكن هناك دلائل على قصور قلبي. ولأن تشخيص القبول كان احتشاء عضل القلب، فقد أعطي المورفين لتفريج ألمه وتوجسه، ونقل مباشرة إلى وحدة العناية القلبية، حيث بدئ فوراً بالمراقبة المستمرة لمخطط كهربائية القلب.

الموجودات المختبرية:

أظهر مخطط كهربائية القلب الأولي ارتفاع القطعة S-T وتبدلات أخرى في بعض الاتجاهات تشير كلها إلى وجود احتشاء أمامي حاد عبر جداري في البطين الأيسر. وأخذت عينة من الدم بعد أربع ساعات ثم بفواصل زمنية منتظمة لقياس النظير الإنزيمي MB لكيناز الكرياتين (CK)؛ وكان نشاط هذا الإنزيم مرتفعاً قليلاً في الساعة الرابعة، وبعد 12 ساعة من القبول أصبح الارتفاع بمقدار أربعة أضعاف السوي. وكان هناك أيضاً ارتفاع معتدل في مستوى كولسترول البلازما (6.5 ممول/لتر)، وكانت مستويات الجليسريدات الثلاثية سوية.

المعالجة:

قرر طبيب القلب المناوب إعطاء t-PA عبر قثطرة قلبية، لأن تشخيص احتشاء عضل القلب الأمامي عبر الجداري حصل خلال أربع ساعات من بدء الأعراض. وبدأ ألم الصدر يختفي بعد 12 ساعة، وأخذ المريض يشعر بالارتياح تدريجياً. وخرج من المستشفى بعد 10 أيام تحت رعاية طبيب أسرته ونصح بالبدء بحمية خافضة للكوليسترول (بما في ذلك تخفيض مدخول الشحوم المشبعة وتناول دواء مثبط لمختزلة HMG-CoA) وإيقاف التدخين.

المناقشة:

ينجم احتشاء عضل القلب عبر الجداري بوجه عام عن خثرات سادة أو شبه سادة تتوضع على مقربة كبيرة من لويحة تصلب عصيدية. ويمكن وضع التشخيص عموماً من القصة السريرية ونتائج تخطيط كهربائية القلب والقياس المتتابع للنظير الإنزيمي CK-MB. وتكون أهداف المعالجة الإجمالية هي الحيلولة دون الوفاة الناجمة عن اللانظميات القلبية بإعطاء الأدوية المناسبة والحد من حجم الاحتشاء. وفي هذه الحالة، اتخذ القرار بإنقاص حجم الاحتشاء عبر حقن t-PA داخل الأوعية الإكليلية الذي يمكن أن يحل الخثرة (الفصل 59). أما بالنسبة للمعالجة على المدى الطويل، فقد جرى البدء بتدابير إنقاص كوليسترول البلازما من خلال وصف دواء يثبط مختزلة HMG-CoA.

يمكن هنا مناقشة أسباب آفة التصلب العصيدي في الشريان التاجي التي قادت إلى الخثرة بشكل موجز جداً؛ وينبغي العودة إلى مرجع عن الباثولوجيا للوقوف على التفاصيل. يأتي الاستعداد للتصلب العصيدي من مستويات LDL المرتفعة ومستويات HDL المنخفضة ومن عوامل عديدة الجينات وأنماط مختلفة من عوامل الخطورة كفرط ضغط الدم وزيادة الكوليسترول والتدخين؛ وأما هذا المريض فلديه ارتفاع في الكوليسترول وهو مدخن بشدة. ويبدو أن وجود LDL المؤكسد في الآفات العصيدية التصلبية يكتسب أهمية خاصة من كونه يشجع على استنفار البلاعم،

وينبه تحرير عوامل نمو مختلفة. وتصاب باطنة الشرايين في البداية، ثم تتراكم البلاعم والبروتينات الشحمية البلازمية والجليكُوز أمينُوجليكانات والكولاجين والكالسيوم في آفة تدعى الخطوط الشحمية. ويمكن أن تتوضع الصفيحات والفيبرين على الوجه التجويفي من الوعاء الدموي، وتظهر خلايا عضلية ملساء أحادية النسيلة في الطبقة المتوسطة من الشريان وتنمو نحو الآفة في باطنة الشرايين منجذبة بعوامل النمو المتحررة من البلاعم والصفيحات (مثل عامل النمو المشتق من الصفيحات)، وتصبح الآفة الإجمالية عندئذ هي لويحة بطانية. وقد يحدث الالتهاب والنزف في اللويحة مما يؤدي إلى تمزق سطحها وتعريض مقوماتها المستنبطة للدم. وتلتصق الصفيحات بالكولاجين المكشوف، وتبدأ الخثرة (الفصل 59) بالتشكل.

إذا اغلقت الخثرة 90٪ من الجدار الوعائي، فقد يتوقف الجريان الدموي عبر الوعاء المصاب (الإقفار التام)، ويستنفد الأكسجين بسرعة كبيرة من الهيموجلوبين الشعري. ولأن الأيض السوي في العضل القلبي هوائياً ويشتق معظم الأتب (ATP) اللازم له من الفسفتة الأكسدية، فإن انعدام الأكسجة الثانوي للإقفار التام سيؤدي إلى تحول أيض العضل القلبي نحو تحلل السكر اللاهوائي الذي لا يولد سوى نحو عشر الأتب (ATP) المنتج بالفسفتة الأكسدية. إضافة لذلك، سينقص معدل دخول الركائز إلى العضل القلبي عبر الدم ونزح النواتج الأيضية منه نقصاً كبيراً أيضاً. ويؤدي هذا التراكم لنواتج الأيض داخل الخلية إلى زيادة الضغط التناضحي داخل الخلية، مما يؤدي للتورم الخلوي الذي يؤثر في نفوذية الغشاء البلازمي. وبذلك، تبدي العضلة القلبية المصابة نفاذاً للأتب (ATP) وتراكماً لحمض اللاكتيك وظهوراً للحُماض الوخيم ونقصاً واضحاً في القوة التقلصية. ويتوقف تخليق الجزيئات الكبروية والنوكليوتيدات تحت وطأة هذه الظروف الأيضية. ويثبط تراكم اللاكتات وأيونات الهيدروجين تحلل السكر عند مستوى نازعة هيدروجين الجليسرالدهيد – 3 – فسفات. وينقص مستوى التميم NAD^+ المؤكسد لأنه لا يتجدد بسلسلة نقل الإلكترونات النهائية التي لا تعمل في غياب الأكسجين. ويترافق

انخفاض مستوى الأتب (ATP) بسبب تثبيط الفسفتة الأكسدية مع ارتفاع مستوى الأدب (ADP) في البداية، إلا أن كيناز الأدينيليل العضلي يحوله إلى الأمب (AMP) الذي يتدرك بفعل نازعة أمين الأدينيلات إلى الأدينوزين. ويتحول الأخير إلى الإينوزين والنواتج الأخرى لتقويض البيورين. وتؤدي كافة هذه التغيرات إلى نضوب واضح لجميعة نوكليوتيدات الأدينين التي تعد عنصراً أساسياً في الأيض الخلوي السوي. ومن المعروف أن مستوى الأتب (ATP) في العضل القلبي عند الكلاب ينقص إلى نحو 10 ٪ من القيم الشاهدة بعد 40 دقيقة من الإقفار الشديد. ويتزامن استنزاف جميعة نوكليوتيدات الأدينين مع ظهور أذية خلوية غير عكوسة لكن ليس بالضرورة حدوث ذلك. وليس من الممكن في الوقت الحاضر استعراض التغيرات الأيضية الدقيقة التي تدفع الخلية إلى الموت بشكل غير عكسي. وقد أشارت دراسات مختلفة إلى نضوب الأتب (ATP) وتنشيط إنزيمات الفسفوليباز داخل الخلية (التي تحدث أذية الأغشية الخلوية) وتنشيط البروتيازات وتراكم أيونات الكالسيوم داخل الخلية، ويلخص (الشكل 65-5) بعض الآليات المساهمة في إحداث احتشاء عضل القلب الحاد.

ويمكن القول بوجه عام إنه كلما كانت محاولات إعادة الإرواء إلى منطقة الإقفار في العضلي القلبي أبكر، كانت النتائج أفضل. وبعد ست ساعات من الإصابة، تكون الأذية غير عكسية، وربما تتأذى بعض الخلايا بشكل غير عكسي بعد نحو ساعة من الإقفار الكامل. وهكذا، فإنه ينبغي إعطاء t-PA أو الستربتوكيناز عاجلاً (خلال 12 ساعة على الأكثر). ويكون منشط مولد البلازمين النسيجي البشري المأشوب (t-PA) فعالاً مثل الستربتوكيناز على الأقل، إن لم يكن أفضل منه؛ وهو أيضاً (على عكس الستربتوكيناز) غير مستضدي ونادراً ما يسبب نقصاً شديداً في الضغط الدموي ولكنه أكثر كلفة، ولذلك تستعمل بعض المراكز الستربتوكيناز ما لم يكن هناك مضاد استطباب (Contraindication) بسبب الأرجية أو التعرض السابق أو نقص ضغط الدم الشديد.

أما الأحداث الكيميائية الحيوية التي تحصل إذا توطدت إعادة إرواء المنطقة

المقفرة من العضل القلبي (مثلاً، بعد تطبيق t-PA أو الستربتوكيناز) فهي ذات أهمية كيميائية حيوية وسريرية كبيرة أيضاً. ويمكن أن تؤدي إعادة الإرواء بحد ذاتها إلى الموت الخلوي، وتدعى هذه الحالة باسم إصابة عودة الإرواء (Reperfusion injury) ومن الآليات المسببة لذلك هي أن أذية الغشاء البلازمي (لمختلف مضخاته الأيونية مثلاً) يمكن أن تحدث خلال فترة الإقفار مما يغير بشكل خطير خصائص نفوذيته. وهذا ما يؤثر في كمون الغشاء، ويسمح أيضاً بفيض مركبات مثل أيونات الكالسيوم ودخولها من البلازما. ويمكن أن تؤدي المستويات المرتفعة من أيونات الكالسيوم داخل الخلية إلى حدوث فوضى داخل الخلية بتنشيط أو تثبيط مختلف الإنزيمات بطريقة غير منظمة. وهناك أيضاً اهتمام واضح باحتمال أن تلعب الجذور الحرة، مثل نواتج الأيض الأكسجينية المُختزَلة جزئياً وذات التفاعلية الشديدة كفوق الأكسيد ($O_2^{\bullet-}$) وجذور الهيدروكسيل $OH^{\bullet}$، دوراً في إصابة عودة الإرواء. وتكون جذور الهيدوركسيل الحرة تفاعلية بشكل خاص ويمكن توليدها من خلايا العضل القلبي أو كريات الدم في الدوران (الكريات البيض مفصصة النوى مثلاً). وهي تؤذي الخلايا بإحداث أكسدة فائقة للدهون وتحطيم طيقان الدنا (DNA) وأكسدة مجموعات السلفهيدريل في البروتينات.

ويتولد أنيون فوق الأكسيد بنقل إلكترون مفرد إلى الأكسجين الجزيئي O_2:

$$O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{\bullet-}$$

في تفاعلات يحفزها السيتوكروم P450 وأكسيداز الزانثين وأكسيداز الهبة التنفسية (أكسيداز التميم NADPH) الموجودة في الكريات البيض المفصصة. ويحفز إنزيم ديسموتاز فوق الأكسيد التفاعل التالي :

$$O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

ظهور التصلب العصيدي (عديد الجينات عادة)

↓

تشكل خثرة كبيرة في الشريان التاجي

↓

حرمان العضل القلبي من الإرواء الدموي (الإقفار)

↓

التحول إلى تحلل السكر اللاهوائي، ثم نقص تخليق الأتب (ATP)، ونفاد جميعة نوكليوتيدات الأدنين

↓

ازدياد NADH الناجم عن توقف سلسلة نقل الإلكترونات النهائية بسبب عوز الأكسجين

↓

تراكم حمض اللاكتيك والمتأيضات الأخرى مما يسبب زيادة في الأسمولية داخل الخلية وتغير النفوذية الغشائية

↓

نقص الباهاء (pH) في خلايا العضل القلبي

↓

قصور تقلص العضل القلبي بشكل تدريجي

↓

توقف التقلص

↓

تنشيط إنزيمات الفسفوليباز الغشائية، تدرك البروتينات بالبروتيازات، دخول أيونات الكالسيوم

↓

موت المنطقة المصابة من العضل القلبي

الشكل 5-65 : ملخص الآليات المساهمة في إحداث احتشاء العضلي القلبي الحاد. ولا تشير الأسهم في كافة الحالات إلى العلاقة السببية الدقيقة.

وبذلك يلتقط (يكنس) هذا التفاعل أنيونات فوق الأكسيد محولاً إياها إلى بيروكسيد هيدروجيني أقل تفاعلية. ولقد أجريت بعض التجارب لتعيين ما إذا كان تطبيق ديسموتاز فوق الأكسيد خلال إعادة الإرواء يمكن أن يحمي العضل القلبي من إصابة عودة الإرواء، لكن النتائج كانت ملتبسة. ولذلك، ما يزال دور أنيونات فوق الأكسيد في إصابة عودة الإرواء غير واضح تماماً. ومع ذلك، يتزايد الآن الاهتمام بدور الجذور الحرة في الكثير من أنماط الأذية الخلوية والمرض.

الحالة الخامسة: التسمم الحاد بالإيثانول (السكْر):

السَّبَبِيَات:

كيميائية.

القصة المرضية والفحص السريري:

أدخل رجل بعمر 52 سنة قسم الطوارئ بحالة سبات؛ وقد بدا واضحاً أنه كان في حالة اكتئاب متزايدة بعد وفاة زوجته قبل شهر. وقد كان قبل وفاتها يشرب الخمر باعتدال، لكن استهلاكه للكحول ازداد بوضوح على مدى الأسابيع القليلة الأخيرة. وقد أصبح يتناول طعاماً قليلاً أيضاً. وقد حضرت ابنته المتزوجة لرؤيته صباح الأحد فوجدته فاقداً للوعي على الكرسي في غرفة المعيشة وبجانبه على الطاولة زجاجتا خمر فارغتين. وبفحص المريض، بدا غير قابل للإيقاظ وكان تنفسه عميقا وصاخبا مع ظهور رائحة الكحول في نفسه وكانت درجة حرارته 35.5°م (السوية 36.3 - 37.1° م)؛ وكان التشخيص عند القبول هو السبات الناجم عن التناول المفرط للكحول.

الموجودات المختبرية:

كانت النتائج المختبرية الدموية عند قبول المريض هي : الكحول 500 مج/100 مل، الجلوكوز 2.7 ممول/ل (السوي 3.6-6.1)، اللاكتات 8.0 ممول/ ل (السوي 2.2

0.5 -)، الباهاء (pH) 7.21 (السوي: 7.35 - 7.45). وكانت هذه النتائج متفقة مع تشخيص القبول المترافق مع وجود حماض أيضي (Metabolic acidosis).

المعالجة:

تقرر البدء فوراً بالديال الدموي (Hemodialysis) بسبب السبات والمستوى المرتفع جداً للكحول في الدم. ويؤدي ذلك إلى إزالة الإيثانول السام مباشرة من الجسم، وهو ليس ضرورياً إلا في الحالات الخطيرة جداً من التسمم بالإيثانول. وفي هذه الحالة، انخفض مستوى الكحول في الدم بسرعة واستعاد المريض وعيه لاحقاً في اليوم نفسه. وقد أعطي الجلوكوز وريدياً (5٪) بعد إيقاف الديال لمعاكسة نقص سكر الدم الذي أبداه هذا المريض. وقد شفي المريض جيداً ونصح بتحويله إلى الاستشارة النفسية.

المناقشة

يعد الاستهلاك المفرط للكحول مشكلة صحية أساسية في معظم المجتمعات. وتتعامل الحالة الراهنة مع التأثيرات السمية الحادة للمدخول الكبير جداً من الإيثانول. والمشكلة المرتبطة بذلك، والتي لم تدرس هنا مع أن لها العديد من الأوجه الكيميائية الحيوية، هي حدوث التشمع الكبدي في الأشخاص الذين يستمرون بتناول كميات زائدة من الإيثانول (مثلاً، 80 ج من الإيثانول المطلق يومياً، أو نحو ربع جالون من الويسكي العياري 80) لأكثر من عشر سنوات.

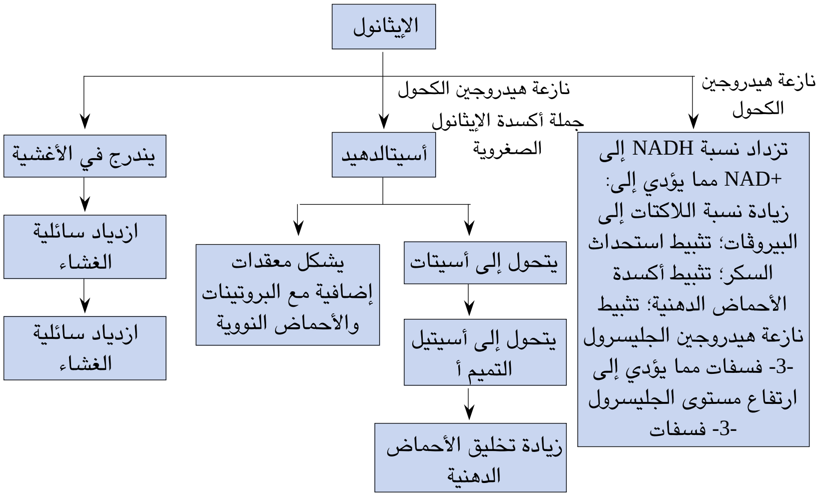
ومن وجهة نظر كيميائية حيوية بحتة، فالسؤال الرئيسي المتعلق بالحالة الراهنة هو كيف يحدث الإيثانول تأثيراته الحادة المتنوعة، بما في ذلك السبات والحماض اللاكتيكي ونقص سكر الدم؟ أما وجهة النظر السريرية فتعنى بتحقيق أفضل طريقة لمعالجة هذه الحالة.

لقد نوقش أيض الإيثانول في (الفصل 27)؛ وهو يتم بشكل رئيسي في الكبد ويشمل سبيلَين:

يستخدم السبيل الأول (الأساسي) نازعة هيدروجين الكحول ونازعة هيدروجين الأسيتالدهيد ليحول الإيثانول إلى أسيتات مروراً بالأسيتالدهيد، ثم تتحول الأسيتات إلى أسيتيل التميم أ. وينتج $NADH + H^+$ (تميم مختزل) في كلا التفاعلين. وبناءً عليه، قد تزداد نسبة NADH إلى NAD^+ بشكل ملحوظ عند تناول مقادير كبيرة من الإيثانول. وهذا ما قد يؤثر في ثابتة توازن (K_{eq}) العديد من التفاعلات الأيضية الهامة التي تستخدم هذين التميمَين العاملين. وتزيح المستويات المرتفعة من NADH التوازن بين اللاكتات والبيروفات باتجاه الأول فيزداد (يتسبب بحدوث الحُماض اللاكتيكي) وينقص تركيز البيروفات (اللازمة لتفاعل كربوكسيلاز البيروفات) مما يؤدي إلى تثبيط استحداث السكر. وفي الحالات الشديدة، عندما ينضب جليكوجين الكبد ولا يعود متوفراً لتحلل الجليكوجين، يحدث نقص سكر الدم.

أما الطريق الثاني فيشمل السيتوكروم P450 الصغروي (Microsomal) جملة أكسدة الإيثانول الصغروية) ويؤدي أيضاً إلى إنتاج الأسيتالدهيد الذي يعد جزيئاً ذا تفاعلية عالية ويستطيع أن يشكل معقدات إضافية (Adducts) مع البروتينات والأحماض النووية والجزيئات الأخرى. ويبدو من المحتمل أن قدرته على التفاعل مع الجزيئات المختلفة تساهم في إحداث التأثيرات السمية للإيثانول. كما يبدو أن الإيثانول قادر أيضاً على الاندراج في الأغشية البيولوجية موسعاً إياها ومسبباً لزيادة ميوعتها (سائليتها "Fluidity") وعندما تكون الأغشية المتأثرة قابلة للاستثارة، يؤدي ذلك إلى تغيرات في كمون فعلها، مما يخل بالنقل الفاعل عبرها، ويؤثر أيضاً في إطلاق النواقل العصبية. ويمكن أن تؤدي كافة هذه التغيرات إلى إخماد وظيفة الدماغ لدرجة قد تصل إلى حد السبات والموت بسبب الشلل التنفسي عندما تكون هذه التغيرات شديدة بدرجة كافية.

ويلخص (الشكل 65-6) الآليات الرئيسية المساهمة في إحداث التسمم بالإيثانول.



الشكل 65-6 : ملخص الآليات المساهمة في إحداث التسمم بالإيثانول.

الحالة السادسة: الحثل العضلي من نمط دوشين:

السَّبَبِيَات:

جينية (وراثية).

القصة المرضية والفحص السريري:

أحضر صبي بعمر أربع سنوات إلى عيادة الأطفال في المستشفى. وكانت أمه قلقة لأنها لاحظت أن ابنها كان يترنح في مشيته، وقد شعرت بذلك مراراً، ويجد صعوبة في صعود السلم. ولم يكن للطفل أخوة، لكن سبق للأم أن رزقت بأخ له مات بعمر تسع عشرة سنة بحثل عضلي. وقد لاحظ الطبيب الفاحص ضموراً عضلياً في كل من حزام الحوض والكتف؛ وضخامة معتدلة في عضلات الربلة (Calf). وبسبب الضعف العضلي ونمط توزعه، كان التشخيص المفترض هو الحثل العضلي من نمط دوشين.

الموجودات المختبرية والموجودات الأخرى:

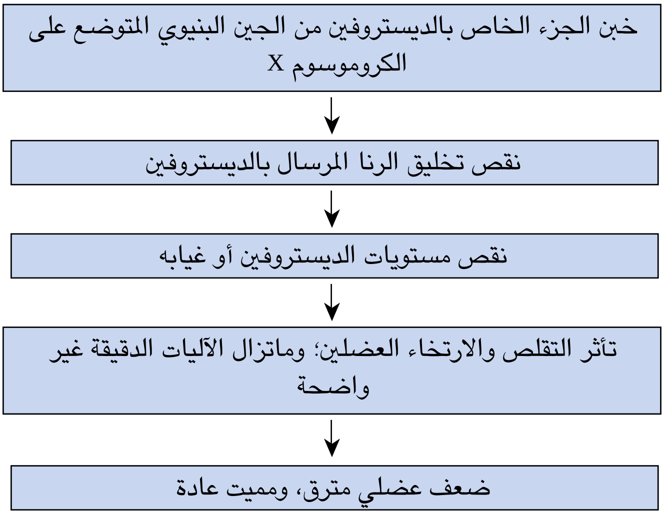
كانت فعالية كيناز الكرياتين في المصل مرتفعة بشكل ملحوظ. كما كانت موجودات التخطيط الكهربي للعضل مميزة للحثل العضلي، في حين كانت دراسات التوصيل العصبي سوية. وأظهر فحص الخزعة المأخوذة من عضلة الربلة وجود مناطق من النخر العضلي وبعض التباين في حجم الألياف العضلية. وباستخدام المسبار من الدنا المتمم (cDNA) لتسلسل جين الديستروفين، أظهر اختبار لطخة ساوثرن غياب الشدفة الموافقة لهذا الجين. كما أن تحليل جزء صغير من الخزعة العضلية بطريقة لطخة ويستيرن أظهر غياب بروتين الديستروفين.

المناقشة:

إن وجود كل من القصة العائلية والتوزع النموذجي للضعف العضلي وزيادة فعالية كيناز الكرياتين في المصل ونتائج تخطيط كهربية العضل المميزة وتحليل الخزعة العضلية والموجودات المختبرية التي تظهر شذوذات في جين الديستروفين، كل ذلك يثبت التشخيص الأولي الذي وضعه طبيب الأطفال، وهو حثل دوشين العضلي. وهذا المرض هو اضطراب عضلي تنكسي وخيم مرتبط بالكروموسوم X، ويحدث في طفل واحد من أصل كل 3,500 مولود ذكر حي. ويصيب الذكور الصغار الذين يظهرون في البدء نقصاً في قوة عضلاتهم الدانية يؤدي إلى مشية البطة وصعوبة الوقوف، ثم يترقى هذا الضعف إلى درجة شديدة جداً في نهاية المطاف.

لقد قادت دراسات مختلفة إلى توضع العيب في المنطقة المتوسطة من الذراع القصير للكروموسوم X، ثم إلى تعيين شدفة الدنا (DNA) المخبونة لدى المصابين بحثل دوشين العضلي. وباستعمال الشدفة غير المخبونة الموافقة المأخوذة من أفراد أسوياء، تم عزل دناً متمم (cDNA) اشتق بالانتساخ العكسي من مُنْتَسخ (رنا مرسال) بطول 14 كيلو أساس يتم التعبير عنه في العضل الهيكلي للأجنة والبالغين. ثم تم تنسيل هذه الشدفة والتعرف على ناتجها البروتيني «الديستروفين»، وهو بروتين عصوي الشكل وزنه 400 ك.دالتون، ويتألف من نحو 3685 حمضاً أمينياً. وقد كان الديستروفين غائبا أو ناقصاً بوضوح في هلام الرحلان الكهربي لعضل

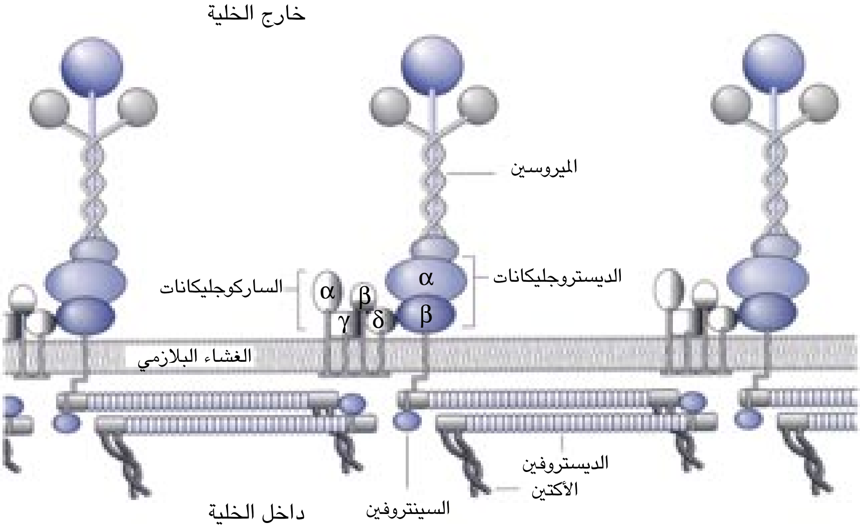
المصــــابين بحـــثل دوشـين وعــضل الفــئــران المصـــابة بـالحــثل العــضلـي المرتبط بالكروموسوم X (mdx). تم فيما بعد استخدام أضداد مضادة للديستروفين لدراسة توضعه في العضل فوجد أنه يترافق مع الغمد العضلي (الغشاء البلازمي) للعضل السوي، وكان غائباً أو ناقصاً بشكل ملحوظ في المصابين بحثل دوشين العضلي. ويعد النقص الأقل شدة في مقدار الديستروفين، أو نقص حجمه سبباً لحثل بيكر العـضلـي، وهو نمط أخف من الحـثل العـضلـي. ويلخص (الشكل 65-7) الآليــات المساهمة في إحداث حثل دوشين العضلي.



الشكل 65-7 : ملخص الآليات المساهمة في إحداث حثل دوشين العضلي (MIM 310200).

يبدو أن للديستروفين أربعة حقول يتماثل اثنان منها مع الحقول الموجودة في الأكـتـينين ـ ألفـا، ويتـمـاثل الثـالث مع الحـقل الموجـود في السـبكتـرين (بـروتين في الهيكل الخلوي للكريات الحمراء). وكما يبدو في (الشكل 65-8)، يتآثر الديستروفين مع الأكتين والسنتروفين والديستروجليكان ـ بيتا. ولم تتضح وظيفة هذا البروتين بعد، لكن قد يلعب دوراً في سبل الإشعار عبر الأغشية وفي تثبيت الغشاء البلازمي.

وقد يؤثر عوز الديستروفين في سلامة الغشاء البلازمي فتزداد الهشاشة التناضحية للعضل المصاب بالحثل، أو يسمح بتدفق مفرط لأيونات الكالسيوم إلى داخل الخلية.



الشكل 65-8 : تنظيم الديستروفين والبروتينات الأخرى بالنسبة للغشاء البلازمي للخلايا العضلية. يعد الديستروفين جزءاً من معقد كبير قليل القسيمات يرتبط بقوة مع عدة معقدات بروتينية أخرى. ويتألف معقد الديستروجليكان من الديستروجليكان ـ ألفا الذي يرتبط ببروتين الصفيحة القاعدية «الميروسين» والديستروجليكان ـ بيتا الذي يربط الديستروجليكان ـ ألفا والديستروفين. ويرتبط السينتروفين بمنطقة النهاية الكربوكسيلية من الديستروفين. ويتكون معقد الساركوجليكان من أربعة بروتينات عابرة للغشاء هي جزيئات الساركوجليكان ـ ألفا وبيتا وجاما ودلتا. ولم تتضح بعد وظيفة معقد الساركوجليكان وطبيعة التآثرات بين وحيداته وبينه وبين المعقدات الأخرى. ويتشكل معقد الساركوجليكان في العضل المخطط فقط، وتفضل وحيداته الارتباط فيما بينها مما يوحي بأن المعقد يقوم بوظيفته كوحدة متميزة ومنفردة. وتؤدي طفرات الجين المُرمِّز للديستروفين إلى الحثل العضلي من نمطي دوشين وبيكر؛ كما تبين أن الطفرات في الجينات المرمزة للساركوجليكانات المختلفة مسؤولة عن الحثول العضلية لحزام الأطراف (مثل MIM 601173).

ويعد الجين المُرمِّز للديستروفين أحد أكبر الجينات البشرية المعروفة حتى الآن (2300 كيلو أساس، 79 إكسوناً)، وهذا ما يساعد على تفسير ملاحظة أن ثلث حالات حثل دوشين العضلي تقريباً هي طفرات جديدة. وقد أجريت محاولات لإنتاج الديستروفين بتكنولوجيا الدنا المأشوب، وربما يمكن تطبيقها في نهاية المطاف على المرضى في نهاية الأمر. ولا يمكن استخدام مقايسة الديستروفين في التشخيص قبل الولادة، لأنه لا يعبر عن البروتين إلا في الخلايا العضلية فحسب، وليس في الخلايا السلوية أو عينات الزغابة المشيمائية. ولكن قد يسهل توافر مسابير خاصة بالديستروفين من الدنا المتمم (cDNA) التشخيص قبل الولادة لحثل دوشين العضلي عن طريق اعتيان (أخذ عينة من) زغابات مشيمائيّة أو ببزل السَّلى (Amniocentesic). وسيكون من السهل تصنيف الأنماط المتعددة من الحثل العضلي بتحديد الأنماط التي يصاب فيها الديستروفين والأنماط التي لا يبدو أنها تلعب دوراً. ولقد تبين أن بعض أنماط الحثل العضلي تنجم عن طفرات في الجينات المرمزة للساركوجليكانات المختلفة المبينة في (الشكل 65-8). ويعد التوصل إلى أن غياب الديستروفين هو سبب حثل دوشين العضلي أحد المنجزات الرئيسية لتطبيق البيولوجيا الجزيئية الجديدة على الأمراض البشرية.

المعالجة:

لا توجد حتى الوقت الراهن معالجة نوعية لحثل دوشين العضلي. ولذلك كانت المعالجة في هذه الحالة أعراضية بشكل رئيسي. وقد شجع الصبي على القيام بالتمارين والبدء بمراجعة عيادة الحثل العضلي التخصصية بشكل دوري بحيث يمكن معالجة المضاعفات عند حدوثها. ونصحت الأم بالحصول على استشارة وراثية.

لقد جرى اختبار نقل الأرومات العضلية في عدة مراكز كمعالجة لحثل دوشين العضلي. وأساس ذلك هو أن الأرومات العضلية المحقونة في عضلات المصابين يمكن أن تندمج مع ألياف المضيف وتمنحها نواها، مما يقود إلى انتساخ الديستروفين السوي وتخليقه. وقد ذكرت نتائج محاولة لنقل الأرومات العضلية إلى

12 ولداً عام 1995. ولوحظ غياب الأرومات العضلية المحقونة أو وجود القليل منها لدى 11 منهم، ولم يحدث تحسن في قوة العضل الذي حقنت فيه الأرومات العضلية بعد ستة أشهر من التجربة. وكان الاستنتاج هو أن العضل البشري غير مناسب كثيراً لنقل الأرومات العضلية بالمقارنة مع العضل الفأري (Murine) (حيث أجريت التجارب الأولية). وعلاوة على ذلك، ربما تكون الاستجابات المناعية تجاه الأرومات العضلية المزروقة (المأخوذة من الآباء والأخوة الأصحاء للصبيان) متعارضة مع التطعيم الثابت بالأرومات العضلية. ولا بد من إجراء المزيد من الأبحاث للبرهان على فائدة هذه الطريقة. وتخضع طرائق أخرى خاصة بإدخال جين الديستروفين إلى الخلايا العضلية المصابة للدراسة.

الحالة السابعة: التليف الكيسي (Cystic fibrosis):

السَّبَبِيَات:

وراثية (جينية).

القصة المرضية والفحص السريري:

طفلة وحيدة لعائلة قوقازية عمرها سنة أحضرتها والدتها إلى العيادة في مستشفى الأطفال المعتلين؛ وقد كانت تعاني من الحمى مع سعال متواصل منذ 24 ساعة. وذكرت والدتها أن ابنتها سبق أن عانت من ثلاث هجمات من «التهاب القصبات» منذ ولادتها، وعولجت كل منها بالمضادات الحيوية من قبل طبيب الأسرة. كما لاحظت والدتها أن ابنتها تتغوط برازاً كتلياً نوعاً ما له رائحة كريهة خلال الأشهر الماضية. ولم يزدد وزنها حسب ما هو متوقع نسبة إلى عمرها. وفي ضوء قصة المشكلات الرئوية والمعدية المعوية، توقع طبيب الأطفال الموجود أنه قد يكون لدى الطفلة داء التليف الكيسي رغم غياب القصة العائلية لهذا الاضطراب.

الموجودات المختبرية:

أظهرت صورة الصدر الشعاعية علامات تتفق مع ذات الرئة والقصبات. وكانت شحوم البراز زائدة. وعندما أُجري اختبار العرق الكمي باستخدام حامل الأيونات البيلوكاربين، وجد أن مستوى أيونات الكلور في المصل 70 مللي مكافئ /ل (يكون الاختبار إيجابياً إذا كان أكثر من 60 مللي مكافئ/ل) ؛ وأعيد الاختبار بعد بضعة أيام، وكانت النتائج مماثلة.

المعالجة:

أعطيت الطفلة مضاداً حيوياً مناسباً وأحيلت إلى عيادة التليف الكيسي لتتلقى المزيد من الرعاية. وجرى البدء ببرنامج شامل للعناية بصحتها من مختلف النواحي، بما في ذلك الأمور النفسية الاجتماعية. وبدئ بإعطائها مستحضرات الإنزيمات البنكرياسية (التي أعطيت مع كل وجبة) مع قوت عالي الكالوري معزز بعديد ڤيتامينات والڤيتامين E. وجرى البدء بالنزح الوضعي للمفرزات الرئوية الثخينة. وعولجت العداوى بسرعة بالصادات المناسبة. وبعمر ست سنوات، أصبح نمو الطفلة سوياً، وتخلصت من العداوى نسبياً لمدة سنة، ودخلت المدرسة وأحرزت تقدماً جيداً.

المناقشة:

يعد التليف الكيسي أحد أكثر الأمراض الوراثية خطورة بين السكان البيض في أمريكا الشمالية. وهو يصيب نحو 1 من كل 2500 فرد، ويورث كداء كروموسومي جسدي متنح، ويحمل هذا المرض شخص واحد من كل 25 تقريباً. وهو داء يحدث في الغدد خارجية الإفراز، وتكون على أشدها في السبيلين الهضمي والتنفسي. والعلامة التشخيصية الرئيسية هي وجود مقادير مرتفعة من كلوريد الصوديوم في العرق، مما يعكس شذوذاً مستبطناً في الوظيفة الغدية خارجية الإفراز (انظر لاحقاً). وللأسباب المتعلقة بشذوذات نقل أيونات الكلور والصوديوم، تصبح القنوات البنكرياسية وقنوات بعض الغدد خارجية الإفراز الأخرى ممتلئة بمخاط لزج مما

يؤدي إلى انسدادها. كما يوجد هذا المخاط في القصيبات فيسدها أيضاً مما يوفر وسطاً ملائماً لنمو بعض الجراثيم (كالعنقودية الذهبية والزائفة الزنجارية) التي تسبب عداوى قصبية رئوية ناكسة تقود إلى خلل خطير في الوظيفة الرئوية في نهاية المطاف. هذا الداء الرئوي قد يقود بدوره إلى ضخامة البطين الأيمن وربما إلى قصور القلب. ويموت معظم المرضى بسبب العداوى الرئوية أو قصور القلب. ويبقى الكثير من المرضى حتى العشرينات من عمرهم أو أكثر بشرط التشخيص المبكر للحالة وعلاجها بشكل مناسب؛ وما تزال الأبحاث المكثفة على مختلف المعالجات مستمرة، وتبدو الصورة واعدة.

إن الصورة السريرية النمطية هي وجود طفل صغير مع قصة عداوى رئوية ناكسة وعلامات قصور إفراز البنكرياس الخارجي (مثل البراز الدهني الكتلي). ولكن المرض متغاير سريرياً، وهذا ما يعكس جزئياً على الأقل التغاير على المستوى الجزيئي (انظر لاحقاً). ويبقى لدى نحو 15 ٪ من المرضى بعض من وظيفة البنكرياس يكفي لتصنيفهم على أنهم «أكفياء الوظيفة البنكرياسية»؛ ويبدو هؤلاء المرضى أفضل من غيرهم ممن يصابون بقصور البنكرياس. ويمكن الحصول على قصة عائلية للتليف الكيسي إذا وجدت الإصابة في أخوة آخرين. وقد توجد مشكلات ناجمة عن غياب المفرزات البنكرياسية عند الولادة أحياناً، حيث يحضر الرضيع بانسداد معوي ناجم عن العقي (Meconium) الثخين جداً (عِلُّوص Ileus العُقي). وقد يتأخر التشخيص في حالات أخرى (حيث الإصابة أقل شدة) حتى سني المراهقة. كما يصيب التليف الكيسي السبيل التناسلي، ويصاب معظم الذكور وأغلبية الإناث بالعقم. والجدير بالذكر هنا أن الاختبار الأكثر فائدة في هذا المجال هو اختبار العرق الكمي بالحامل الأيوني البيلوكاربين.

أظهرت نتائج برنامج تعاوني بين العلماء الكنديين والأمريكيين في العام 1989 طبيعة الآفة الوراثية لدى معظم المصابين بالتليف الكيسي. وكان جين التليف الكيسي أول جين أمكن تنسيله بالاعتماد على موقعه المحدد بتحليل الارتباط فقط (التنسيل الموضعي)، واستهلك حجماً كبيراً من الجهد والعمل الهائل فيما يعرف

باسم «علم الوراثة المعكوس [العكسي]» (Reverse genetics). وقد بين هذا النجاح، نظرياً على الأقل، أنه يمكن إظهار الأساس الجزيئي لأي مرض وراثي باستخدام أساليب مماثلة. وقد بينت الدراسات الأولى أن الجين موجود على الكروموسوم 7، وذلك بالاعتماد على الارتباط مع أحد الرفلبات (RFLP) وقد وجدت رفلبات (RFLPs) إضافية تحيط بجين التليف الكيسي، وتمثل منطقة بطول نحو 1.5 مليون زوج أساس تقريباً. وقد سمحت مشاركة «قفز الكروموسوم» و«المشي الكروموسومي» بتنسيل 500 كيلو أساس من الدنا (DNA) تبين أن 250 كيلو أساس منها تقريباً هي جين التليف الكيسي. وأمكن التعرف على الجين لأن جزءاً منه استخدم في سبر مكتبة الدنا المتمم (cDNA) المتشكلة من جزيئات الرنا المرسال لخلايا قنوات الغدد العرقية؛ ويتوقع أن تبدي هذه الخلايا العيب نفسه الذي يبديه المصابون بالتليف الكيسي والمتعلق بنقل الملح. وأمكن تحديد نسيلة إيجابية، وبسَلسَلة الدنا المتمم (cDNA) وجد أنه كان بطول 6000 زوج أساس تقريباً، ويحتوي على إطار قراءة مفتوح متوافق مع ترميز بروتين ما. وقد كشفت دراسات واسعة جرت فيها مقارنة متواليات الدنا المتمم (cDNA) من أفراد أسوياء وآخرين مصابين وجود طفرة قوامها خبْن ثلاثة أسس وتؤدي إلى خبْن ثمالة الفينيل ألانين رقم 508 (ΔF508) من الناتج البروتيني للجين. وتوجد هذه الطفرة فقط في المصابين بالتليف الكيسي، وليس في الأسوياء. ويرمز الناتج البروتيني لجين التليف الكيسي بروتيناً غشائياً اندماجياً بوزن 170 ك. دالتون تقريباً. وقد أطلق على هذا البروتين اسم البروتين CFTR (منظم الإيصالية عبر الغشاء في التليف الكيسي). ويلخص (الجدول 65-2) الطرائق الأساسية المستخدمة في تحديد جين التليف الكيسي، كما أدرجت بعض خصائص الجين والبروتين CFTR في (الجدول 65-3). ويتألف البروتين من نصفين متماثلين يحتوي كل منهما على ست مناطق عابرة للغشاء وطية رابطة للنوكليوتيد (الأتب (ATP)) (Nucleotide (ATP) binding bend “NBF”) ويتصل نصفا الجزيء بواسطة حقل تنظيمي. ويتوضع F508 في NBFI (الشكل 65-9). ويبدي البروتين تماثلاً بنيوياً مع بعض البروتينات الأخرى التي تستخدم الأتب (ATP) لنقل الجزيئات عبر الأغشية الخلوية (مثل البروتين السكري ـ P الذي

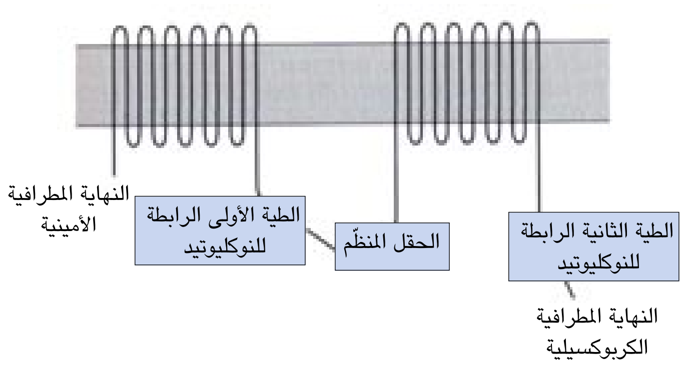
يساهم في مقاومة المعالجة الكيميائية للسرطان، انظر الفصل 62). والبروتين CFTR هو عبارة عن قناة كلوريد ينشطها الأمب الحلقي (cAMP)؛ وهذا ما يتفق مع أن الوظيفة الشاذة لهذه القناة تفسر المحتوى المرتفع للكلوريد في العرق كما ذكرنا آنفاً. ويكون خبن ΔF508 عادة مرافقاً للنمط الظاهري PI. ولم تتحدد بعد آلية إحداث الطفرات في هذه القناة لزيادة كلوريد العرق والمخاط اللزج الذي يكون مزعجاً بشكل خاص في التليف الكيسي. ويلخص (الشكل 65-10) تسلسل الأحداث التي يمكن أن تفسر حدوث مشاكل المسلك الهوائي في المصابين بالتليف الكيسي. ولقد لوحظ أن بعض الطفرات يمكن أن تبطئ بشكل كبير نقل CFTR داخل الخلايا إلى السطح الخلوي خلال تخليقه الحيوي، بحيث أنه في بعض المصابين بالتليف الكيسي قد يمثل نقص وظيفة CFTR نقصاً زائداً في مقداره في الغشاء البلازمي أكثر من مجرد تغير وظيفته.

* سمحت دراسة عدد كبير من الأسر المصابة بالتليف الكيسي بمَوضعة (بتوضع) الجين على الكروموسوم 7 من خلال إيضاح الارتباط مع عدة رفلبات (RFLPs) على هذا الكروموسوم.
* وقد أمكن تضييق المنطقة المقصودة من الكروموسوم 7 باستعمال المزيد من الرفلبات.
* استخدام القفز الكروموسومي والمشي الكروموسومي لعزل النسائل.
* تمت سَلسَلة المنطقة المصابة بالبحث عن الطفرات في الدنا (DNA) المأخوذ من المرضى والتي لم تكن موجودة في الدنا (DNA) المأخوذ من الأسوياء، والبحث عن الإكسونات التي يتم التعبير عنها كجزيئات رنا مرسال في أنسجة مصابة بالتليف الكيسي (مثل البنكرياس والرئة) وعن متواليات مصونة بين الأنواع، وعن إطار قراءة مفتوح (يشير إلى البروتين المعبر عنه).

الجدول 65-2 : ملخص الاستراتيجيات الرئيسية المستخدمة في كشف جين التليف الكيسي.

* طول الجين 250 ألف زوج أساس تقريباً ويتوضع على الكروموسوم 7، ويحوي 25 إكسوناً.
* رنا مرسال بطول 6129 زوج أساس.
* بروتين عابر للغشاء مؤلف من 1480 حمضاً أمينياً.
* بروتين CFTR يحتوي على اثنين من NBF وحقل تنظيمي واحد.
* إن خبن ΔF508 الموجود في NBF الأول هو أكثر الطفرات شيوعاً في التليف الكيسي.
* يعد البروتين CFTR قناة كلوريدية تستجيب للأمب الحلقي (cAMP).
* يبدي تماثلاً مع بروتينات أخرى تستخدم الأتب (ATP) للتأثير في النقل عبر الأغشية (مثل البروتين السكري P –).

الجدول 3-65 : بعض خصائص البروتين CFTR وجينه.
[CFTR = البروتين عبر الغشائي المنظم للتليف الكيسي؛ F = الفينيل ألانين،
NBF = طية رابطة للنوكليوتيد].



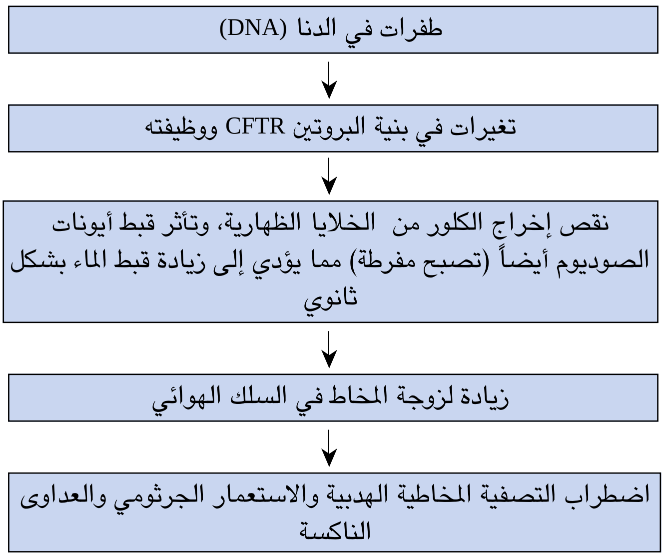
الشكل 9-65 : مخطط لبنية البروتين CFTR (بدون مقياس). يحتوي البروتين على 12 شدفة عابرة للغشاء (حلزونية غالباً) وطيتان (أو حقلان) رابطتان (رابطان) للنوكليوتيد (NBF1 و NBF2)وحقل منظم (R) واحد. ويربط NBF1 و NBF2 الأتب (ATP) ويقرنان حلمهته مع نقل أيونات الكلور. ويتوضع الفينيل ألانيل 508 (الموضع الرئيسي للطفرات في التليف الكيسي) في NBF1.

على الرغم من أن خبن ΔF508 هو أكثر الطفرات تواتراً، إلا أنه تم كشف الكثير من الطفرات الأخرى (أكثر من 700 حالياً) أيضاً، بما في ذلك حالات الخبْن الصغيرة والغرز والطفرات المغلطة والخائبة. وهناك تباين في تواتر بعض الطفرات بين مختلف المجموعات السكانية. وقد اقترح أن متغايري الزيجوت بالنسبة للتليف الكيسي قد يبدون مزية انتقائية خاصة بمقاومة الكوليرا مما يساعد على استبقاء الجينات الطافرة. وفي أمريكا الشمالية، يكون لدى 70 ٪ تقريباً من حملة التليف الكيسي طفرة تؤدي إلى خبن ΔF508. وكان من المتوقع أن يؤدي تحديد طفرة معينة في التليف الكيسي بسرعة إلى كشف الحملة باستعمال مسبار نوعي قليل النوكليوتيد يخلق لكشف الطفرة. ولكن حقيقة أن 30 ٪ من الحالات مكونة من 700 طفرة مختلفة على الأقل عرقلت هذا التقدم. وربما يتوقف التحري العام ـ حتى لو برهن على سهولة توفره اقتصاديا ـ إلى حين التأكد من أن 95 ٪ من الطفرات على الأقل يمكن كشفها باستعمال مجموعة من المسابر؛ ومع هذا فهناك الكثير من السلبيات الكاذبة، وقد يكون الآباء غير متأكدين من أن أطفالهم غير مصابين. إلا أنه تستخدم حالياً مسابير مخصصة لكشف خبن ΔF508 وعدد محدود من الطفرات الأخرى في حالات مناسبة لإثبات وجود التليف الكيسي عند الأطفال، ولكشف الحملة والتشخيص قبل الولادة باستعمال عينات من الزغابات المشيمائية.

أعطت هذه الأبحاث الموصوفة آنفاً حافزاً لاستمرار الجهود المكثفة لتطوير معالجات جديدة للتليف الكيسي. وقد تبين مؤخراً أن إدخال جزيئات دنا متمم (cDNA) مرمزة للبروتين CFTR يمكن أن يصحح بوضوح العيوب في نقل الكلوريد في الخلايا المستنبتة من مرضى مصابين بالتليف الكيسي. وقد جرى إدخال ڤيروس غدي يرمز البروتين CFTR البشري إلى السبيل التنفسي للجرذان، وتبين أنه يوجه تخليق هذا البروتين؛ وقد اكتملت دراسة مماثلة نوعاً ما عند الإنسان. وذكرت نتائج تجربة سريرية في عام 1994 جرى فيها تطبيق حامل ڤيروسي غدي مأشوب (Ad CFTR) يحتوي على دناً متمم (cDNA) يُرمِّز للبروتين CFTR البشري السوي على الظهارة الأنفية والقصبية لأربعة أفراد مصابين بالتليف الكيسي. وقد أظهر الحامل أنه يعبر عن cDNA الخاص بـ CFTR في ظهارة السبيل التنفسي. ولوحظ أن الجرعات العالية تترافق مع متلازمة جهازية ـ رئوية مؤقتة، ربما

يتواسطها الإنترلوكين – 6. لم يلاحظ خلال المتابعة لمدة 6-12 شهراً تأثيرات جانبية على المدى البعيد. وينبغي ملاحظة أن هذه الدراسة لم تحاول تصحيح النمط الظاهري للتليف الكيسي، بل إظهار فاعلية الأسلوب. وقد تحد الاستجابة المناعية من استخدام حوامل الڤيروسات الغدية، ويبقى من الضروري معرفة ما إذا كان مستوى تعبير CFTR مرتفعاً بشكل كاف ومستمراً أيضاً لتحقيق الفائدة لدى المصابين بالتليف الكيسي.

لقد أثبت أن استعمال مستحضر مأشوب للدناز (DNAse) البشري، الذي يهضم دنا (DNA) الكائنات الحية الدقيقة الموجودة في السبيل التنفسي، مفيد في مثل هذه الحالة. ويجري بشكل فعال استقصاء اختبار إمكانية تطوير أدوية نوعية يمكنها التآثر مع البروتين CFTR، ويقوم بتحسين وظيفته.



الشكل 65-10 : ملخص الآليات المحتملة المساهمة في اضطراب المسالك الهوائية للمصابين بالتليف الكيسي (MIM. 219700) وتحدث الطفرات في الأفراد من أصل قوقازي بنسبة 70٪ تقريباً في موضع واحد، مما يقود إلى خبن ΔF508 من البروتين CFTR؛ وقد أمكن كشف نحو 700 طفرة أخرى، وتؤثر حوادث كهربائية متشابهة في المخاط في القنوات البنكرياسية.

الحالة الثامنة: داء العوز المناعي المشترك الشديد SCID الناجم عن عوز نازعة أمين الأدينوزين (ADA) :

السَّبَبِيَات:

مناعية، وراثية.

القصة المرضية والفحص السريري

أحضرت فتاة صغيرة عمرها 11 شهراً مع والديها إلى مستشفى للأطفال. وقد سبق أن أصيبت هذه الفتاة بعدد من هجمات ذات الرئة والسلاق [Thrush] (عدوى فموية تنجم عادة عن المبيضات البيضاء) منذ ولادتها. وكانت الموجودات الرئيسية بعد الفحوص الأولية الشاملة هي انخفاض شديد في مستويات اللمفاويات الدورانية (قلة اللمفاويات الوخيم) ونقص مستويات الجلوبولينات المناعية الدورانية. وقد اشتبه طبيب الأطفال بوجود داء العوز المناعي المشترك الشديد.

الموجودات المختبرية:

أظهر تحليل عينة من كريات الدم الحمراء انخفاضاً شديداً في فعالية ADA، وارتفاعاً شديداً أيضاً (نحو خمسين ضعف الحد السوي) في d ATP. وهذا ما يؤكد تشخيص العوز المناعي المشترك الشديد بسبب عوز ADA، وهو الإنزيم الذي يحول الأدينوزين إلى إينوزين (الفصل 36):

الأدينوزين ⟵ الإينوزين + أمونيا+

المعالجة:

بدأت المعالجة بالمضادات الحيوية المناسبة، كما أعطيت الطفلة حقن دورية من الجلوبولين المناعي. إضافة لذلك، تقرر إعطاء حقن عضلية أسبوعية من ADA البقري المقترن مع عديد إيثيلين الجليكول. ويعد ADA البقري غير مستمنع نسبياً،

ويؤدي اقترانه بعديد إيثيلين الجليكول إلى إطالة عمره النصفي؛ وقد تبين أنه يفيد في معالجة عوز ADA. وقد أُبلغ والدا الطفلة بأن زرع نقي العظام هو المعالجة الأكثر فائدة، لكن المعالجة كانت قد أنقضت. إلا أنه على الرغم من التحسن الأولي بعد إعطاء ADA المقترن بعديد إيثيلين الجليكول، بدأت حالة المريضة بالتفاقم. وفي ضوء التقارير الحديثة عن نجاح المعالجة بجينِ ADA تم اقتراحها على الأهل فوافقوا عليها. وعزلت اللمفاويات والخلايا وحيدة النوى من دم الطفلة باستعمال مَدروج فيكول (Ficoll). ثم استنبتت بوجود الإنترلوكين – 2 (لتنبيه الانقسام الخلوي)، وتم إعداؤها بڤيروس قهقري معدل يحتوي على غرزات ترمز ADA وعلى إنزيم يتحكم في مقاومة النيومايسين (جين NeoR، يعمل كواصم للتأكد من نقل الجين). وبعد ذلك، حُقنت الخلايا الذاتية المعالجة بالجين وريدياً. وتلقت الطفلة حقنات مماثلة شهرياً على مدى السنة التالية، بالإضافة إلى تلقي ADA المقترن بعديد إيثيلين الجليكول. وقد أظهرت قياسات فعالية ADA ارتفاعاً مستمراً (نحو 20 ٪ من السوي) للإنزيم في اللمفاويات الجوالة بعد ستة أشهر من المعالجة؛ كما أظهرت الدراسات باستعمال طريقة PCR مع مسابير NeoR وجود النسبة المئوية ذاتها تقريباً من اللمفاويات المحتوية على المادة الوراثية المغروزة تقريباً.

المناقشة:

يورث عوز نشاط ADA كحالة كروموسومية جسدية متنحية. وتشمل معظم الطفرات المكتشفة في جين ADA استبدالات في الأسس، إلا أنه لم تكتشف حالات من الخبْن. وتؤدي هذه الطفرات إلى نقص فعالية ADA أو نقص ثباتيته. كما يقود إحصار نشاط ADA إلى تراكم الأدينوزين الذي يؤدي بدوره إلى تراكم ديوكسي الأدينوزين و dATP. والمستويات المرتفعة من هذا الأخير سامة، وبشكل خاص للمفاويات التي تبدي عادة فعالية مرتفعة لإنزيم ADA. وهكذا، تتأذى اللمفاويات أو تموت، مما يؤدي إلى خلل المناعة بنوعيها الخلوي والخلطي.

لقد أصبح عوز نازعة أمين الأدينوزين مهماً لأنه المرض الأول الذي عولج بالمعالجة الجينية بخلايا جسدية. وقد عولج عدة مرضى كما وُصِف آنفاً، وهذا ما

يقدم مثالاً للمعالجة الجينية خارج الكائن الحي (انظر الفصل 63). وأحد أسباب اختيار عوز ADA كحالة مناسبة للمعالجة بجين جسدي هو أن الخلايا التي تعبر عن جين ADA تتصف بمزية انتقائية هي النمو بمعدل أكثر من الخلايا غير المصححة. ولقد نشرت نتائج تجربة سريرية على طفلين مصابين بعوز ADA والعوز المناعي المشترك الشديد عام 1995. وكانت التجربة قد بدأت عام 1990 بنقل جين ADA ضمن ڤيروس قهقري إلى الخلايا التائية للطفلين فعاد عدد الخلايا التائية في الدم إلى الحدود السوية، وكذلك عدد من الاستجابات المناعية الخلوية والخلطية. وقد أنهيت المعالجة الجينية بعد سنتين، لكن استمر التعبير عن الناقل (Vector) المدخل وجين ADA. وقادنا هذا إلى استنتاج أن المعالجة الجينية يمكن أن تكون إجراءاً إضافياً مأموناً وفعالاً في معالجة هذه الحالة. ويبين (الشكل 11-65) مخططاً مبسطاً للأحداث المساهمة في عوز ADA.



الشكل 11-65 : ملخص الأحداث المحتملة التي تؤدي إلى العوز المناعي المشترك الشديد الناجم عن عوز ADA (MIM 102700).

الحالة التاسعة: النمط الأول من الداء السكري مع الحُماض الكيتوني:

السَّبَبيّات:

عوز صماوي، عوز الإنسولين.

القصة المرضية والفحص السريري:

أدخلت طفلة عمرها 14 عاماً مستشفى للأطفال وهي بحالة سبات (غيبوبة). وقد ذكرت أمها أن الطفلة كانت بصحة جيدة حتى قبل نحو أسبوعين عندما أصيبت بالتهاب في الحلق وحمى معتدلة. ثم نقصت شهيتها، ولم تعد تشعر عموماً بأنها في حالة سوية. وقبل عدة أيام من قبول الطفلة في المستشفى، أخذت تعاني من عطش زائد ومن الاستيقاظ عدة مرات للتبول ليلاً. وقد كان طبيب الأسرة خارج البلدة، ولم ترغب الأم الاتصال بطبيب آخر. ولكن في يوم الدخول بدأت الطفلة بالتقيؤ وأصبحت بحالة وسن، وكان الصعب إيقاظها فأحضرتها أمها إلى قسم الطوارئ. وعند فحص الطفلة، وجدت في حالة تجفاف وجلدها بارد وتتنفس بشكل تنهدي عميق (تنفس كوسماول)، وكانت رائحة نفسها برائحة الفاكهة. وكان ضغط دمها 60/90 والنبض 115/الدقيقة، ولم تستيقظ. وقد شخص الطبيب الفاحص أنها تعاني من الداء السكري الشديد من النمط الأول (المعتمد على الإنسولين) مع وجود حُماض كيتوني وسبات نتيجة لذلك.

الموجودات المختبرية:

ثبت التشخيص الأولي بعد ظهور النتائج المختبرية التالية المقيسة في البلازما أو المصل (وقد وضعت المستويات السوية بين قوسين):

الجلوكوز: 35 ممول /ل (3.6 - 6.1ممول / ل)

بيتا هيدروكسي البوتيرات 13.0 ممول / ل (أقل من 0.25 ممول/ ل).

الأسيتوأسيتات 2.8 ممول/ ل (أقل من 0.2 ممول/ل).

البيكربونات 5 ممول / ل (24-28 ممول/ل)

نتروجين اليوريا (BUN) 12ممول / ل (2.9-8.9 ممول/ل).

أيونات الهيدروجين في الدم الشرياني 89 نانومول /ل (44.7 - 45.5 نانومول/ل) [الباهاء (pH): 7.05] (7.35-7.45).

البوتاسيوم 5.8 ممول/ل (3.5 - 5.0 ممول/ل).

الكرياتينين 160 ميكرومول/ل (60-132 ميكرومول/ل).

البول:

الجلوكوز: ++++

الأجسام الكيتونية: ++++

المعالجة:

إن التدبير الأهم عند معالجة الحُماض الكيتوني السكري هو إعطاء الإنسولين والمحلول الملحي النظامي وريدياً. وقد أعطيت هذه المريضة الإنسولين وريدياً (10 وحدات /ساعة) ضمن محلول كلوريد الصوديوم 0.9 ٪. ولم يُعطَ الجلوكوز حتى هبط مستواه في البلازما إلى ما دون 250 ملجم/100 مل. كما أعطي كلوريد البوتاسيوم بحذر، مع مراقبة مستويات البوتاسيوم في البلازما كل ساعة في البداية. وتعد المراقبة المستمرة لمستويات البوتاسيوم هامة للغاية في تدبير الحُماض الكيتوني السكري لأن التدبير الناقص لتوازن البوتاسيوم هو السبب الرئيسي للموت. ولا توجد حاجة لإعطاء البيكربونات روتينياً، لكن قد تكون ضرورية إذا كان الحُماض شديداً جداً.

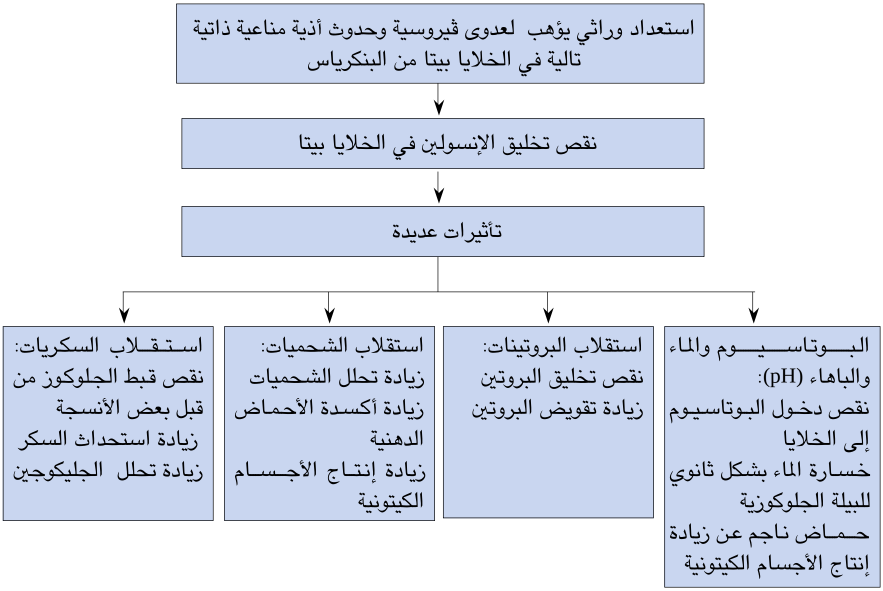
المناقشة:

لم يتضح بعد السبب الدقيق للداء السكري من النمط الأول (المعتمد على الإنسولين)؛ وسنعرض فيما يلي مخططاً افتراضياً لتسلسل الأحداث في هذا الداء.

يكون لدى المصابين بهذا النمط من الداء السكري استعداد وراثي يمكن أن يؤهب لعدوى ڤيروسية. وتؤدي العدوى والتفاعل الالتهابي اللاحق إلى تغير واضح في استضداد سطح الخلايا بيتا في البنكرياس مُطلقة تفاعلاً مناعياً ذاتياً يشمل كلاً من الأضداد السامة للخلايا واللمفاوية التائية؛ وهذا ما يؤدي إلى تخرب واسع في الخلايا بيتا ينجم عنه الداء السكري من النمط الأول. وربما كان التهاب الحلق الذي أصاب هذه المريضة منذ عدة أسابيع قبل القبول هو الحدث العدوائي الڤيروسي المطلق للمرض.

إن فرط سكر الدم الشديد والبيلة الجلوكوزية ووجود الكيتون في الدم والبيلة الكيتونية كلها تؤكد تشخيص الحُماض الكيتوني السكري. وتشير الباهاء (pH) المنخفضة إلى حُماض شديد ناجم عن زيادة إنتاج حمض الأسيتو أسيتيك وحمض البيتا ـ هيدروكسي البوتيريك بشكل كبير، ويؤكد نقص مستويات البيكربونات و PCO_2 وجود حُماض أيضي مع معاوضة تنفسية جزئية (بفرط التهوية). كما تشير قيم اليوريا والكرياتينين إلى بعض الاضطراب الكلوي (بسبب نقص الإرواء الكلوي نتيجة نقص حجم الدم الثانوي للتجفاف) والتجفاف وزيادة تدرك البروتين. وغالباً ما يرافق المستوى المرتفع للبوتاسيوم في البلازما حالة الحُماض الكيتوني السكري بسبب نقص قَبْط البوتاسيوم من الخلايا في ظل غياب الإنسولين.

وهكذا، تدل الصورة السريرية في الحُماض الكيتوني السكري على الشذوذات في أيض السكريات والشحميات والبروتين، والتي تحدث عندما تنقص المستويات البلازمية للإنسولين بشدة. ويلخص (الشكل 65-12) هذه الشذوذات وأسباب اضطرابات أيض البوتاسيوم والماء وأيونات الهيدروجين التي توجد في الحُماض الكيتوني السكري. كما تساهم زيادة أسمولية البلازما نتيجة فرط سكر الدم في حدوث السبات في الحُماض الكيتوني السكري. وينبغي أن يكون واضحاً أن التدبير المنطقي للمصاب بالحُماض الكيتوني السكري يعتمد على المعرفة الشاملة لأفعال الإنسولين.



الشكل 12-65 : ملخص الآليات المساهمة في إحداث الحُماض الكيتوني في الداء السكري من النمط الأول (MIM 222100).

الحالة العاشرة: داء ترسب الأصبغة الدموية الأولي:

السَبَبِيَات:

وراثية (جينية).

القصة المرضية والفحص السريري:

زار رجل عمره 50 عاماً طبيب أسرته شاكياً من تعب وآلام مفصلية معممة معتدلة منذ نحو سنة. وكانت الآلام المفصلية على أشدها في الأصابع والمعصمين والوركين والركبتين والكاحلين. وقد ولد والدا هذا الرجل المتوفيان في اسكتلندا ثم هاجرا إلى كندا في مرحلة الشباب. ولم يكن لدى المريض أخوة كما أنه لا يدخن ولا

يتناول الكحول. وقد كان يتناول أحياناً الأسيتامينوفين بسبب آلام مفاصله دون تعاطي أية أدوية أخرى. وقد مات عمه بسرطان الكبد قبل عشر سنوات تقريباً. وبالإضافة إلى التيبس والتورم الخفيف في بعض مفاصل المريض، لاحظ الطبيب اصطباغاً جلدياً رمادياً، كان على أشده في الأجزاء المكشوفة، ولذلك أحاله إلى طبيب الأمراض الباطنة الذي لاحظ أن حافة الكبد كانت قاسية ومجسوسة تحت الحافة الضلعية تماماً. فاشتبه بداء ترسب الأصبغة الدموية الأولي وطلب الفحوص المختبرية المناسبة، بالإضافة إلى صورة شعاعية لليدين والوركين والركبتين والكاحلين.

الموجودات المختبرية:

(ذكرت القيم المرجعية السوية بين قوسين).

الهيموجلوبين: 13ج/100 مل (13-18 عند الذكور).

تعداد الكريات الحمراء: 4.6 مليون /مكل (4.5–5.3 عند الذكور).

الجلوكوز (على الريق): 5 ممول/ل (3.6–6.1).

ناقلة أمين الألانين: 105 وحدة/ل (10-55 عند الذكور).

حديد المصل 50 ميكرومول/ل (5.5-29).

السعة الكلية الرابطة للحديد: 60 ميكرومول/ل (40-78).

إشباع الترانسفيرين بالحديد 82٪ (22-47 ٪).

الفريتين 3200 مكج/ل (30-300 عند الذكور).

أبدت الصورة الشعاعية للمفاصل غياب الغضروف المفصلي وتضيق الأحياز المفصلية وزوالاً منتشراً لتمعدن العظام.

في ضوء الموجودات السابقة، قرر الطبيب إجراء خزعة كبدية. وأظهر الفحص النسيجي للخزعة تليفاً معتدلاً حول الأوردة البابية. وكان الهيموسيديرين مرئياً بشكل حبيبات بنية ذهبية في كل من الخلايا المتنية والخلايا الظهارية الصفراوية؛

وظهر الحديد واضحاً في هذه الخلايا عند استخدام التلوين بزرقة بروسيا. وأظهر القياس الكمي للحديد في الخزعة ارتفاعاً ملحوظاً للحديد (8100 مكج لكل جرام من الوزن الجاف؛ السوي: 300-1400 مكج). وكانت الموجودات المختبرية والموجودات الأخرى متفقة مع تشخيص داء ترسب الأصبغة الدموية الأولي.

المعالجة:

تعد معالجة داء ترسب الأصبغة الدموية الأولي بسيطة نسبياً، وهي تتألف من فصد الدم من المريض إلى أن يهبط فائض الحديد في الجسم إلى القيم السوية تقريباً. ويتحقق ذلك في البداية بالفصادة الأسبوعية بنحو 500 مل من الدم (250 مج من الحديد). وقد تستغرق العملية سنتين أو أكثر. ويجري تقويم كفاءة المعالجة بالمراقبة الشهرية لفريتين المصل وإشباع الترانسفيرين. وعندما تصل هذه المعالم إلى مستويات مرضية، تصبح الفصادة ضرورية مرة واحدة كل 3 أشهر فقط. ويندر أن يحتاج الأمر إلى المعالجة الخالبة (بالديفيروكسامين (Deferoxamine))، وهي أكثر كلفة وأقل فعالية من الفصادة. وليس من الضروري تحديد مدخول الحديد في القوت.

يجب معالجة المضاعفات (التشمع الكبدي والداء السكري والعقم والمشاكل القلبية) بشكل مناسب. ويوصى باستقصاء كافة أفراد العائلة للسماح بالمعالجة الباكرة. ويكون المآل ممتازاً عندما تكشف الحالة باكراً (قبل حدوث التشمع الكبدي مثلاً). وقد تظهر سرطانة الخلية الكبدية عند المصابين بالتشمع. كما لا يستجيب الاعتلال المفصلي في داء ترسب الأصبغة الدموية للمعالجة بشكل جيد، وقد يتفاقم بلا هوادة رغم عودة معالم الحديد في الجسم إلى الحدود السوية.

المناقشة:

إن العلامة الواصمة لداء ترسب الأصبغة الدموية هي زيادة حديد الجسم الإجمالي بما يكفي لإحداث أذية نسيجية. ويتراوح حديد الجسم الإجمالي بين 2.5 و 3.5 ج في البالغين الأسوياء؛ ويربو إلى ما فوق 15 ج عادة في داء ترسب الأصبغة الدموية.

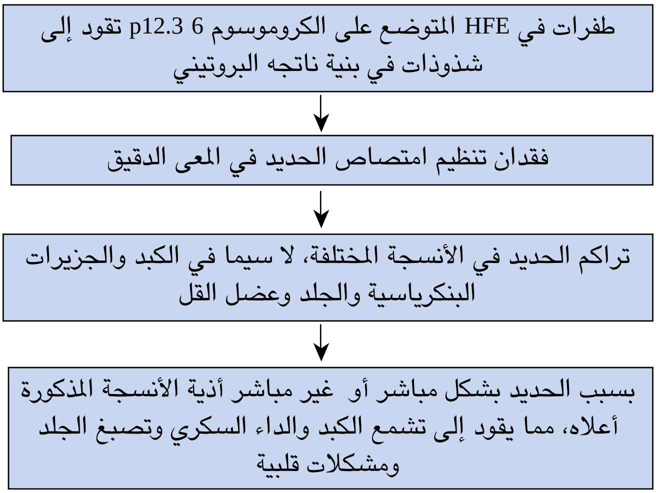
قد يكون داء ترسب الأصبغة الدموية أولياً (وراثياً) أو ثانوياً لأسباب مختلفة (مثل الحالات التي تتطلب نقل الدم وفرط الحمل الغذائي في أجزاء من أفريقيا، حيث تكون البيرة مخزنة في أوعية من الحديد). وفي داء ترسب الأصبغة الدموية الأولي، يزداد امتصاص الحديد من الأمعاء بشكل كبير (انظر لاحقاً). ويؤدي تراكم الحديد إلى أذية الأعضاء مثل الكبد والجزيرات البنكرياسية والقلب؛ ويعتقد بأنه يلعب دوراً هاماً في أذية الأنسجة (مثل أذية التشمع)، على الأرجح بسبب تأثيره في إنتاج الجذور الحرة (الفصل 60). ويتراكم الميلانين ومقادير مختلفة من الحديد في الجلد فيؤدي إلى اللون الرمادي الذي غالباً ما يشاهد. ولم يتضح بعد السبب الدقيق لتراكم الميلانين. وقد قاد الترافق الشائع للداء السكري (بسبب أذية الجزيرات) والتصبغ الجلدي إلى استعمال مصطلح الداء السكري البرونزي للتعبير عن داء ترسب الأصبغة الدموية الأولي.

يعد داء ترسب الأصبغة الدموية الأولي اضطرابا كروموسومياً جسدياً متنحياً واسع الانتشار. وهو شائع في أوربا (تواتر الحملة (الحاملين) هو 10/1 تقريباً)، لاسيما في أيرلندا واسكتلندا، وفي المهاجرين من هذه البلدان، وهذا ما ساهم في نشر الجين المصاب في العالم. ومعروف منذ عام 1976 أن هناك علاقة بين مستضدات الهلا (HLA antigens) وداء ترسب الأصبغة الدموية الأولي. وفي عام 1996 عزل فيدر ومساعدوه الجين الذي يدعى الآن باسم *HFE* ويتوضع على الكروموسوم 6p21.3، على بعد 3-5 ميجا أساس من جينات معقد التوافق النسيجي الرئيسي باتجاه القسيم الطرفي. ووجد أن الناتج المُرمَّز يرتبط بالصنف الأول من مستضدات MHC. وتبين أن *HFE* عند المصابين بداء ترسب الأصبغة الدموية الأولي يبدي طفرتين مختلفتين من النوع المُغلِّط، وأكثرهما تواتراً هي الطفرة التي تؤدي إلى تغير ثمالة السيستينيل 282 إلى ثمالة التيروزيل (CY282Y) مما يخل ببنية البروتين، أما الطفرة الأخرى فتغير ثمالة الهيستيديل 63 إلى الأسبارتيل (H63D) ويختلف تواتر هاتين الطفرتين باختلاف المجموعات العرقية؛ حيث تكون CY282Y أقل تواتراً في الإيطاليين منها في الأوربيين الشماليين. ولا يكون لدى بعض المصابين بداء ترسب الأصبغة الدموية الأولي أي من الطفرتين، ربما بسبب وجود طفرات أخرى في *HFE* أو أن هناك جيناً آخر أو أكثر يساهم في حدوث المرض.

لقد خضعت الاختبارات الجينية للتقويم، لكن لا يوصى بها حالياً. وقد تفيد الاختبارات الخاصة بطفرات *HFE* في المصابين بارتفاع تراكيز الحديد في المصل.

لم تتضح بعد كيفية قيام الناتج البروتيني لجين *HFE* بوظيفته في امتصاص الحديد. ولكن تبين أنه يتوضع في خلايا الخبيئات في المعي الدقيق، وهو الموضع المُرَجَّح لامتصاص الحديد. وهناك دلائل على أن البروتين يرتبط بجلوبولين صغروي بيتا2 ، ويختل هذا التآثر عند وجود الطفرة CY282Y، وربما يؤدي إلى إخفاق البروتين في الوصول إلى سطح الخلايا. وقد لوحظ وجود مضاهئ للجين *HFE* في الفأر مما يسمح بالحصول على نموذج حيواني لداء ترسب الأصبغة الدموية.

يعرض (الشكل 65-13) مخططاً افتراضياً للأحداث الرئيسية المساهمة في حدوث داء ترسب الأصبغة الدموية الأولي.



الشكل 65-13 : مخطط افتراضي للأحداث الرئيسية المسببة لداء ترسب الأصبغة الدموية الأولي (MIM 535200) وتكون الطفرتان الأساسيتان هما CY282Y و H63D (انظر النص)، وقد تسهم طفرات في جينات أخرى غير *HFE* في حدوث هذا المرض أيضاً.

*** References:**

Blaese RM et al: T lymphocyte directed gene therapy for ADA-SCID: Initial results after 4years. *Science* 1995;270:475.

Burke W et al: Hereditary hemochromatosis: Gene discovery and its implications for population-based screening. *JAMA* 1998;280:172.

Cleaver JE, Kraemer KH: Xeroderma pigmentosum and Cockayne syndrome. In : *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed . Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 1995.

Denke M, Wilson JD: protein and energy malnutrition. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 14th ed Fauci AS et al (editors). McGraw-Hill,1998.

Emery AEH: The muscular dystrophies. *BMJ* 1998;317:991.

Foster DW: Diabetes mellitus. In: *Harrison's Principle of Internal Medicine*, 14th ed Fauci AS et al (editors) Mc-Graw-Hill,1998.

Fuster VR et al: The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndrome. (Two parts.) *N Engl J Med* 1992;326;245,319.

Halperin ML, Rolleston FS: *Clinical Detective Stories: A Problem-Based Approach to Clinical Cases in Energy and Acid-Base Metabolism.* Portland Press, 1993.

Lieber CS: Medical disorders of alcoholism. Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston: *N Engl J Med* 1995;333:1058.

Marx J: DNA repair comes into its own. *Science* 1994;333:1058.

Raufman J-P: Cholera. *Am J Med* 1998;104:386.

Schnerider DJ et al al: Acute coronary syndromes: 1. The platelet's role. *Hosp Pract (Off Ed) Mar*;1998;33:171.

Schwiebert EM et al: Cystic fibrosis: A multiple exocrinopathy caused by dysfunctions in a multifunctional transport protein, *Am J Med* 1998;104:576.

Tsui L-C, Durie P: Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Hosp Pract (Off Ed)* Jun;1997;32:115. (This is one article of an excellent series on “Molecular Genetics in Clinical Practice”.)

Yu BP: Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 1994;74;139.

الملحق
Appendix

المكونات الكيميائية للدم وسوائل الجسم

صلاحية القيم العددية في التعبير عن النتائج المختبرية:

تمثل القيمة الصادرة عن المختبر السريري، بعد تعيين تركيز مادة ما أو مقدارها في عينة ما، أفضل قيمة يمكن الحصول عليها بالطريقة والكواشف والأدوات والهيئة التقنية المساهمة في الحصول على المادة ومعالجتها.

تعبر المضبوطية (Accuracy) عن درجة التوافق بين تعيين القيمة المَقيسة والقيمة «الحقيقية» (مثل التركيز المعلوم في عينة شاهدة). وتشير الدقة (Precision) إلى تناتج (Reproducibility) التحليل، ويعبر عنها بالتفاوت بين عدة قياسات للعينة نفسها. وأما المُعَوَّلية (Reliability) فهي قياس اتفاق الدقة والمضبوطية.

الدقة ليست مطلقة، فهي تتعرض إلى تفاوت متأصل في تعقيد الطريقة وثباتية الكواشف ومضبوطية المعيار الأولي وتعقيد الأداة ومهارة الهيئة التقنية. وينبغي أن يحافظ كل مختبر على معطيات الدقة (التناتج) التي يمكن التعبير عنها إحصائياً بواسطة الانحراف المعياري عن القيمة الوسطية التي نحصل عليها بتكرار التحليل على العينة نفسها؛ فعلى سبيل المثال، يمكن أن تكون الدقة في قياس الكوليسترول في المصل في مختبر جيد هي القيمة الوسطية ±5 مللي جرام/100 مل. وتساوي حدود الثقة 95 ٪ إلى ± انحرافين معياريين أو ± 10 مللي جرام/100 مل. ولذلك، تكون أي قيمة «مضبوطة» ضمن مجال 20 مللي جرام / 100 مل؛ ولذلك تعني القيمة المسجلة 200 مللي جرام /100 مل أن القيمة الحقيقية تقع بين 190 و 210 مللي جرام /100 مل. ولقياس بوتاسيوم المصل بتباين قدره انحراف معياري واحد ±0.1 ممول / ل، أي أن التفاوت يمكن أن يكون ±0.2 ممول من العينة نفسها.

ويمكن أن تمثل القيمة 5.5 عند أفضل مجال وهو 5.3–5.7 ممول/ ل. لذلك، يمكن الحصول على النتيجتين (5.3 ممول/ ل و 5.7 ممول /ل) بتحليل العينة نفسها والبقاء ضمن حدود الدقة الخاصة بالاختبار.

يجب أن يحصل الأطباء من المختبر على قيم التفاوت لقياس معين، كأساس لاتخاذ القرار بكون القيمة المسجلة تمثل تغيراً عن قيمة أخرى عند المريض نفسه.

تفسير الاختبارات المختبرية:

القيم السوية هي تلك التي تقع ضمن انحرافين معياريين عن القيمة الوسطية للجمهرة السوية. ويصادف هذا المجال السوي في 95 ٪ من الجمهرة (Population). وهناك عدة عوامل يمكن أن تؤثر في القيم وتغير المجال السوي؛ ويمكن القول أيضاً أن عوامل مختلفة قد تؤدي إلى قيم تكون سوية في ظروف سائدة، لكنها خارج حدود الثقة 95٪ في ظروف أخرى. وتشتمل هذه العوامل على العمر والجنس والعرق والبيئة والوضعية والتفاوت النهاري وعوامل دورية أخرى والصيام وحالة ما بعد الوجبة والأطعمة المُتناولة والأدوية ومستوى الجهد.

تختلف القيم السوية أو المرجعية حسب الطريقة المستخدمة والمختبر وشروط جمع النماذج وحفظها. وينبغي التعبير بوضوح عن القيم السوية المثبتة من مختبرات منفردة، وذلك لضمان التفسير المناسب.

ينبغي أن يكون تفسير النتائج المختبرية مرتبطاً دائماً بحالة المريض؛ فقد تكون قيمة منخفضة ما هي نتيجة لعيب أو تخفيف في المادة المَقيسة، مثل نقص صوديوم المصل. وقد يترافق الانزياح عن السوي مع مرض ما أو مع بعض الأدوية المستهلكة من قبل الشخص، فقد يرتفع حمض يوريك المصل في المصابين بالنقرس أو ينجم عن المعالجة بالكلوروثيازيد أو بعوامل مضادة للأورام.

يمكن أن تتأثر القيم بطريقة جمع النموذج؛ فالجمع غير الدقيق لبول 24 ساعة والتفاوت في تركيز نموذج بولي مجموع عشوائياً وانحلال الدم في العينة الدموية وإضافة مضاد التخثر غير المناسب وتلوث الآنية الزجاجية أو الأجهزة الأخرى، كل ذلك من الأمثلة عن أسباب النتائج الخاطئة.

ملاحظة: في كل مرة تكون فيها النتيجة غير مألوفة أو شاذة، يجب أن نأخذ بالاعتبار كل المصادر المحتملة للخطأ قبل إقرار المعالجة اعتماداً على تقرير المختبر. ويعد الطب المختبري تخصصاً، ولابد من استشارة الخبراء في هذا الحقل في كل مرة تكون فيها النتائج غير مألوفة أو مشتبهة.

تأثير الوجبات والوضعية في تركيز المواد في الدم:

أ – الوجبات : لقد جرى تعيين القيم السوية المألوفة في اختبارات الدم بمقايسة نماذج «على الريق» مجموعة بعد 8-12 ساعة من الامتناع عن الطعام. وباستثناء حالات قليلة، يسمح بتناول الماء حسب الرغبة.

تتغير بضعة اختبارات روتينية عن القيم الصيامية المألوفة إذا سحب الدم بعد 3-4 ساعات من الفطور. وعندما يسحب الدم بعد 3-4 ساعات من الغداء، تكون القيم أكثر ميلاً إلى الاختلاف عن تلك الخاصة بحالة الصيام الحقيقي. ويتطلب القياس الصحيح لثلاثي أسيل الجليسيرول (الجليسيريدات الثلاثية) في المصل أو البلازما امتناعاً عن الطعام لمدة 10-14 ساعة.

ب – الوضعية : يكون الحجم البلازمي المَقيس في شخص مضطجع لعدة ساعات أعلى بنحو 12-15 ٪ من الشخص الواقف أو المنتصب لمدة ساعة أو نحو ذلك. ويستتبع ذلك أن تعطي القياسات المجراة على دم حصلنا عليه بعد استلقاء الشخص لمدة ساعة أو أكثر قيماً أقل مما عليه في الدم الذي حصلنا عليه من الشخص نفسه وهو في حالة الوقوف. ويبدو أنه يحدث تغير متوسط واضح في حالة الجلوس.

تؤدي العاصبة (Tourniquet) المطبقة لمدة دقيقة بدلاً من 3 دقائق إلى التغيرات التالية في القيم المسجلة: البروتين الكلي: +5٪؛ الحديد : +6.7٪؛ الكوليسترول: +5٪؛ AST (SGOT) : +9.3 ؛ البيليروبين: +8.4 ٪. ولوحظ انخفاض في مستوى البوتاسيوم : (-6٪) ومستوى الكرياتينين (-2.3٪).

صحة الاختبارات المختبرية:

ترتبط القيمة السريرية للاختبار بنوعيته وحساسيته ومعدل وقوع المرض في الجمهرة المختبرة.

تعني الحساسية (Sensitivity) النسبة المئوية للنتائج الإيجابية في الأشخاص المصابين بالمرض. ويكون اختبار بيلة الفينيل كيتون ذا حساسية مرتفعة: فنحصل على نتيجة إيجابية في كل الأشخاص المصابين بالمرض (الحساسية 100 ٪). ويتصف اختبار المستضد السرطاني المضغي (CEA) بنوعية منخفضة: يكون 72 ٪ فقط من المصابين بسرطانة القولون الواسعة إيجابي الاختبار، ونحو 20 ٪ فقط إيجابي الاختبار في المرحلة المبكرة من المرض. وتحدث الحساسية المنخفضة في المراحل المبكرة من أمراض كثيرة، خلافاً للحساسية المرتفعة عندما يكون المرض واضحاً.

تدل النوعية (Specificity) على نسبة النتائج السلبية بين الأشخاص غير المصابين بالمرض. ويكون اختبار بيلة الفينيل كيتون بنوعية مرتفعة: 99.9 ٪ من الأشخاص الأسوياء يظهرون نتيجة سلبية؛ وبالمقابل، يتصف اختبار CEA في سرطانة القولون بنوعية متباينة: يظهر نحو 3٪ من الأفراد غير المدخنين نتيجة إيجابية كاذبة (النوعية 97٪)، في حين يعطي 20٪ من المدخنين نتيجة إيجابية كاذبة (النوعية 80٪). ويعد التداخل في ثيروكسين المصل بين مرضى فرط الدرقية والنساء اللواتي يتناولن موانع الحمل الفموية أو الحوامل مثالاً عن تغير النوعية عما هو سائد في مجموعة مختلفة من الأشخاص.

تشير القيمة التنبؤية (Predictive value) لاختبار إيجابي إلى نسبة النتائج الإيجابية التي هي إيجابية فعلاً. وهي ترتبط بشكل أساسي بمعدل وقوع المرض. ويكون معدل وقوع الداء الكلوي في مجموعة من المرضى في قسم الجراحة البولية أعلى مما هو في عموم الناس، ويكون مستوى كرياتينين المصل ذا قيمة تنبؤية أعلى في هذه المجموعة مما هو في عموم الناس.

وتعبر المعادلات التالية عن التعاريف السابقة:

$$\text{الحساسية} = \frac{\text{الإيجابية الحقيقية}}{\text{الإيجابية الحقيقية + السلبية الكاذبة}} \times 100$$

$$\text{النوعية} = \frac{\text{السلبية الحقيقية}}{\text{السلبية الحقيقية + الإيجابية الكاذبة}} \times 100$$

$$\text{القيمة التنبؤية} = \frac{\text{الإيجابية الحقيقية}}{\text{الإيجابية الحقيقية + الإيجابية الكاذبة}} \times 100$$

قبل طلب الاختبار، لابد من محاولة معرفة ما إذا كانت حساسية الاختبار ونوعيته وقيمته التنبئية كافية للحصول على معلومات مفيدة. ولتكون هذه المعلومات مفيدة، يجب أن تؤثر النتيجة في التشخيص أو المآل أو المعالجة، وأن تؤدي إلى فهم أفضل للآلية المرضية وتكون نافعة للمريض.

بعض القيم المختبرية السوية

الدمويات:

زمن النزف: طريقة إيڤي (Ivy): 1-7 دقيقة (60-420 ثانية)؛ طريقة الارتصاف (Template): 3-9 دقيقة (180-540 ثانية).

القياسات الخلوية للكريات الحمراء : القطر الوسطي = 7.3 ميكرو متر (5.5-8.8 ميكرو متر).

الحجم الكروي الوسطي MCV: الذكور، 80-94 فمتوليتر؛ النساء، 81-99 فمتوليتر (بعداد كولتر).

هيموجلوبين الكرية الوسطي (MCH): 27-32 بيكوجرام.

تركيزهيموجلوبين الكريات الوسطي (MCHC): 32-36 : بيكوجرام/100 مل من الكريات الحمراء (32-36٪).

انكماش الجلطة: يبدأ بعد 1-3 ساعات، ويكتمل بعد 6-24 ساعة. ولا يحدث تحلل الجلطة قبل 24 ساعة.

هشاشة الكريات الحمراء: تبدأ عند تركيز 0.45 - 0.38٪ لكلوريد الصوديوم؛ وتكتمل عند تركيز 0.3-0.36٪ لكلوريد الصوديوم.

الهيماتوكريت (PCV): الرجال 40-52 ٪ (0.4-0.52)؛ النساء، 37-47٪ (0.37-0.47).

الهيموجلوبين: الرجال (الدم)، 14-18 جرام/100 مل (2.09-2.79 ممول/ ل بشكل مربوع هيموجلوبيني)؛ النساء، 12-16 جرام/100 مل (1.86-2.48 ممول/ ل). (المصل) 2-3 ميلي جرام/ 100مل.

زمن الثرومبوبلاستين الجزئي: المنشط، 25-34 ثانية.

الصفيحات : 150000-400000/مكل (0.15-0.4 × 10^{12}/ل)

زمن البروثرومبين: (البلازما) 11 - 14.5 ثانية.

النسبة المَقيسة العالمية (INR):

(البلازما 2.0-3.0).

تعداد الكريات الحمراء (RBC): الرجال، 4.5-6.2 مليون/ مكل (4.5-6.2 × 10^{12}/ل)؛ النساء، 4-5.5 مليون /مكل (4-5.5 × 10^{12} /ل).

الشبكيات (Reticulocytes): 0.2-2٪ من الكريات الحمر.

تعدادا لكريات البيض (WBC): /5000-10000: مكل (5-10× 10^{9} /ل).

الكيمياء السريرية:

الأسيتون والأسيتوأسيتات: 0.3-2 مللي جرام/100مل (3-20 مللي جرام/ل) (في المصل).

الهرمونات والمستقلبات الكظرية:

الألدوستيرون (البول): 2-26 ميكرو جرام/ 24 ساعة (5.5-72 نمول/اليوم)، وتختلف القيم حسب مدخول الصوديوم والبوتاسيوم.

الكاتيكولامينات: (البول) الإجمالي أقل من 100ميكرو جرام/ 24 ساعة، الإيبينيفرين أقل من 10ميكرو جرام/24 ساعة (أقل من 100نمول/اليوم)؛ النورإيبينيفرين أقل من 100 ميكرو جرام/24 ساعة (أقل من 590 نمول/ اليوم).

الكورتيزول الحر: (البول) 20-100 ميكرو جرام/ 24 ساعة (0.55-2.76 ميكرومول /اليوم).

11، 17– هيدروكسي كورتيكويدات: (البول) الرجال، 4-12 مللي جرام/24 ساعة؛ النساء، 4-8 مللي جرام/ 24 ساعة.

17– كيتو ستيرويد: (البول) تحت 8 سنوات، 0-2 مللي جرام/24 ساعة؛ المراهقون، 2-20 مللي جرام/ 24 ساعة (1مللي جرام = 3.5 ميكرومول).

الميتانفرين: (البول) أقل من 1.3 مللي جرام/ 24 ساعة (أقل من 6.6 ميكرومول/ اليوم) أو أقل من 2.2 ميكرو جرام/مللي جرام كرياتينين.

حمض الفانيليل مانديليك (VMA) (البول): حتى 7 مللي جرام/24 ساعة (أقل من 35 ميكرومول/اليوم).

نواقل الأمين:

ناقلة أمين الأسبارتات (SGOT -AST)، 0-41 وحدة/لتر عند درجة 37°م.

ناقلة أمين الألانين (SGPT -ALT)، 0-45 وحدة /لتر عند الدرجة 37°م.

الأمـــونيـــا: (البـــلازمـــا) (بشكل NH_3) 10-80 مـــيكرو جـــرام 100مل (5-50 ميكرومول/ل).

الأميلاز: (المصل) 80-180 وحدة/100مل (سوموجي).

مضاد التربسين ألفا $_1$: (المصل) أكثر من 180 مللي جرام/ 100مل.

حـــمض الأسكوربيك: (البـــلازمـــا) 0.4-1.5 مللي جـــرام/ 100 مل (23-85 ميكرومول/ل).

البيكربونات: (المصل) 24-28 مللي مكافئ/ل (24-28 ممول/ل).

البـيليــروبين : (المصل) الإجـــمــالي، 0.2-1.2 مللي جـرام/100 مل (3.5-20.5 مـيكرومـول/ل). المبـاشــر (المقـتـرن)، 0.1-0.4 مللي جـرام/ 100 مل (أقل من 7 مــيكرومــول/ل). غــيــر المبــاشــر، 0.2-0.7 مللي جـرام/100 مل (أقل من 12 ميكرومول/ل).

الكالسيوم: (المصل) 8.5-10.3 مللي جـرام/100 مل (2.1-2.6 ممول/ل). وتخـتلف القيم باختلاف تركيز الألبومين.

الكالسيوم المتأين : (المصل) 4.25-5.25 مللي جرام/100 مل؛ 2.1-2.6 مللي مكافئ/ل (1.05-1.3 ممول/ل).

الكاروتين ـ بيتا : (المصل، على الريق) 50-300 ميكرو جرام /100 مل (0.9 -5.58 ميكرومول/ل).

السيرولوبلازمين: (المصل) 25-43 مللي جرام/100 مل) (1.7-2.9 ميكرومول /ل).

الكلوريد: (المصل أو البلازما) 96-106 مللي مكافئ/ل (96-106 ممول/ل).

الكوليســتـرول: (المصل أو البـلازمـا) 150-220 مللي جـرام/100 مل (3.9-5.72 ممول/ل) (انظر أجزاء الشحميات لاحقاً).

المحـتـوى من ثاني أكـسـيد الكربون: (المصل أو البـلازمـا) 24-29 مللي مكافئ/ل (24-29 ممول/ل).

النحـــاس: (المصل أو البـــلازمـــا) 100-200 مـــيكرو جـــرام/100 مل (16-31 ميكرومول/ل).

الكورتيـزول: (البـلازمـا) الثـامنة صـبـاحـاً، 5-25 مـيكرو جـرام/ 100مل (138-690 نـانومـــول/ل)؛ الثـــامنة مـــســـاء أقل من 10 مـــيكرو جـــرام/ 100مل (275 نانومول/100مل).

كيناز الكرياتين (CK) : المصل 10-50 وحدة دولية /لتر عند الدرجة 30 مئوية.

النظائر الإنزيمية لنظائر الكرياتين: BB:0٪، MB: 0-3٪، MM:97-100٪.

الكرياتينـين: (المصـل أو البـــلازمـــا) 0.7-1.5 مـللـي جـــرام/100 مل (62-132 ميكرومول/ل).

السيانوكوبلامين: (المصل) 200 بيكوجرام/مل (148 بيكومول/ل).

الإيبينيفرين: (البلازما) في الاضطجاع، أقل من 100 بيكو جرام / مل (أقل من 550 بيكومول/ل).

شحوم البراز: أقل من 30٪ من الوزن الجاف.

الفـريتين: (المصـل) النســاء البـالـغـات، 20-120 نانوجـرام/مل؛ الرجـال، 30-300 نانوجرام/مل.الأطفال حتى 15 سنة، 7-140 نانوجرام / مل.

حـمض الفـوليك: (المصل) 2-20 نانوجـرام/مل (4.5-45 نانومـول/ل). (الكريات الحمر) أكثر من 140 نانوجرام/ مل (أكثر من 318 نانومول/ل).

الجلوكوز: (المصل أو البلازما) 65-110 مللي جرام/ 100 مل (3.6-6.1 ممول/ل)

ناقلة ببتيد جاما جلوتاميل: (المصل) أقل من 30 وحدة /ل عند درجة 30 مئوية.

الهابتوجلوبين: (المصل) 40-170 مللي جرام من السعة الرابطة للهيموجلوبين.

الحديد: (المصل) 50-175 ميكرو جرام/100 مل (9-31.3 ميكرومول/ل).

الســعــة الرابطة للحـديد: (المصل) الإجـمــالي، 250-410 مـيكرو جـرام/100مل (44.7-73.4 ميكرو مول/ل)؛ التشبع المئوي، 20-55 ٪.

اللاكـــتـــات: (دم، إيداء خـــاص) الـوريدي، 4-16 مللي جــرام / 100مل (0.44-1.8 ممول/ل).

نازعة هيدروجين اللاكتات (LDH) (المصل): 55-140 وحدة دولية/ل عند الدرجة 30° مـئـوية؛ SMA، 100-225 وحـدة دوليـة/ل عند الدرجـة 37° مـئـوية؛ SMAC، 60-200 وحدة دولية /ل عند الدرجة 37° مئوية.

الرصــــاص: (البـــول) أقل من 80 مـــيكرو جـــرام/24 ســـاعـــة (أقل من 0.4 ميكرومول/اليوم)

الليباز: (المصل) أقل من 150 وحدة /ل.

الأجزاء الشحمية : (المصل أو البلازما) المستويات المرغوبة: كوليسترول HDL < 40 مللي جــرام/100 مل؛ كــوليــســتــرول LDL > 180 مللي جــرام/100 مل؛ كوليسترول VLDL > 40 مللي جرام/100مل (للتحويل إلى ممول/ل نضرب بالعدد 0.026).

المغنيزيوم: (المصل أو البلازما) 1.8-3 مللي جرام/100مل (0-1.25 ممول/ل).

النورإيبينيفرين: (البـلازمـا) الاضطجـاع، أقل من 500 بيكو جرام/مل (أقل من 3 نانومول/ ل).

الأسمولية: (المصل) 280-296 م. أسـمول/كـيلـو جـرام مـاء (280-296 ممول/كـيلو جرام ماء).

الأكسجين:

السعة: (الدم) 16-24 حجم مئوي. وتختلف القيم باختلاف تركيز الهيموجلوبين.

المحتوى الشرياني: (الدم) 15-23 حجم مئوي. وتختلف القيم باختلاف تركيز الهيموجلوبين.

التشبع المئوي الشرياني: 94-100٪ من السعة.

PO_2 الشـرياني PaO_2: 80-100 ملم زئبق (10.67-13.33 كـيلوباسكال (مـسـتـوى سطح البحر). تختلف بحسب العمر.

$PaCO_2$ (الدم الشرياني): 35-45 ملم زئبق (4.7-6 كيلوباسكال).

الباهاء pH: (الدم الشرياني) 7.35-7.45 (أيونات الهيدروجين 44.7 - 45.5 نانومول/ل).

الفسفاتاز الحمضية : (المصل) 1-5 وحدات (كينج ـ أرمسترونج)، 0.1-0.63 وحدة (بيسي ـ لوري).

الفسفتاز القلوية: (المصل) البالغون: 5-13 وحدة (كينج ـ أرمسترونج)؛ 0.8-2.3 (بيسي ـ لوري)؛ SMA، 30-85 وحدة دولية /ل عند الدرجة 37°مئوية؛ MCSA، 30-115 وحدة دولية /ل عند الدرجة 37°المئوية.

الفسفور اللاعضوية: (المصل،على الريق) 3-4.5 مللي جرام/100 مل (1-1.5 ممول/ل).

البرفرينات:

حمض دلتا أمينوليڤولينيك: (البول) 1.5-7.5 مللي جرام/24 ساعة (11-57 ميكرومول/اليوم).

البُرفوبيلينوجين: (البول) أقل من 2 مللي جرام/24 ساعة (أقل من 8.8 ميكرومول/اليوم).

البوتاسيوم: (المصل أو البلازما) 3.5-5 مللي مكافئ/لتر (3.5-5 مللي مول/لتر).

البروتين:

الإجمالي: (المصل) 6-8 جرام/ 100 مل (60-80 جرام/ل).

الألبومين: (المصل) 3.5-5.5 جرام/100 مل (35-55 جرام/ل).

الجلوبولين: (المصل) 2-3.6 جرام/100مل (20-36 جرام/ل).

الفِبرينوجين: (البلازما) 0.2-0.6 جرام/100 مل (2-6 جرام/ل).

البيروڤات: (الدم) 0.6-1 مللي جرام/100 مل (70-114 ميكرومول/ل).

الصوديوم: (المصل أو البلازما) 136-145 مللي مكافئ/ل (136-145 ممول/ل).

الكثافة النوعية: (الدم) 1.056 (يختلف باختلاف تركيز الهيموجلوبين والبروتين). (المصل) 1.0254-1.0288 (يختلف باختلاف تركيز البروتين).

الترانسفيرين: (المصل) 200-400 مللي جرام/100مل (23-45 ميكروممول/ل).

الثلاثية الجليسيريدات (الشحوم الثلاثية): (المصل) أقل من 165 مللي جرام/100 مل (1.9 ممول/ل) (انظر أجزاء الشحميات سابقاً).

نتروجين اليوريا: (المصل أو البلازما) 8-25 مللي جرام/100 مل (2.9-8.9 ممول/ل). ولا يستخدم مضاد تخثر يحتوي على أوكسالات الأمونيوم.

حمض اليوريك: (المصل أو البلازما) الرجال، 3-9 مللي جرام/100مل (0.18-0.54 ممول/ل)؛ النساء، 2.5-7.5 مللي جرام/100 مل (0.15-0.45 ممول/ل).

اليوروبيلينوجين: (البول) 0-2.5 مللي جرام/24 ساعة (70-470 ميكرومول/اليوم)

اليوروبيلينوجين في البراز: 40-280 مللي جرام/24 ساعة (70-470 ميكرومول/اليوم).

الڤيتامين A: (المصل) 15-60 ميكرو جرام/100 مل (0.53-2.1 ميكرومول/ل).

الڤيتامين B_{12}: (المصل) أكثر من 200 بيكو جرام/مل (أكثر من 148 بيكومول/ل).

الڤيتامين D: (المصل) الكولي كالسيفرول (D_3): 25–هيدروكسي كولي كالسيفرول، 8-55 نانوجرام/مل (19.4-137 نانومول/لتر)؛ 1، 25 – ثنائي هيدروكسي كولي كالسيفرول، 26-65 بيكو جرام/مل (62-155 بيكومول/ل)؛ 24، 25 ثنائي هيدروكسي كولي كالسيفرول، 1-5 نانوجرام/مل (2.4-12 نانومول/ل).

الزنك: (المصل) 50-150 ميكرو جرام/100 مل (7.65-22.95 ميكرومول/ل).

الهرمونات في المصل أو البلازما:

الكظرية:

الألدوستيرون: (البلازما) الاضطجاع، مدخول ملحي سوي، 2-9 نانوجرام/100 مل (56-250 بيكومول/ل). يزيد بالوقوف.

الكورتيزول: (المصل) الثامنة صباحاً، 5-20 ميكرو جرام/100مل (0.14-0.55 ميكرومول/ل)؛ الثامنة مساء، أقل من 10ميكرو جرام/100 مل (0.28 ميكرومول/ل).

الديوكسي كورتيزول: (المصل) بعد إعطاء الميتيرابون، أكثر من 7 ميكرو جرام/100مل (أكثر من 0.2 ميكرومول/ل.

الدوبامين: (البلازما) أقل من 135 بيكو جرام/مل.

الإيبينيفرين: (البلازما) أقل من 0.1 نانو جرام/مل (أقل من 0.55 نانومول/ل).

النورإيبينيفرين: (البلازما) أقل من 0.5 ميكرو جرام/ل (أقل من3 نانومول/ل).

التناسلية:

التستوستيرون الحر: (المصل) الرجال، 10-30 نانو جرام/100 مل؛ النساء، 0.3-2 نانو جرام/100 مل (1 نانو جرام/100 مل = 0.035 نانومول/ل).

التستوستيرون الإجمالي: (المصل) قبل البلوغ، أقل من 100 نانو جرام/100 مل؛ الرجال البالغون، 300-1000 نانو جرام/100 مل؛ النساء البالغات، 20-80 نانو جرام/100 مل؛ الطور الأصفري، حتى 120 نانو جرام/100 مل.

الإستراديول (E_2): (المصل، إيداء خاص)، الرجال 12-34 بيكو جرام/مل؛ النساء، دورة الحيض 1-10 أيام 24-68 بيكو جرام /مل؛ 11-20 يوماً 50-300 بيكو جرام/مل ؛ 21-30 يوماً، 73-149 بيكو جرام/مل (بطريقة المقايسة المناعية الشعاعية RIA (1 بيكو جرام/مل = 3.6 بيكو مول/مل).

البروجسترون: (المصل) الطور الجريبي، 0.2-1.5 مللي جرام/مل؛ الطور

الأصفري، 6-32 نانو جرام/مل؛ الحمل، أكثر من 24 نانو جرام/مل؛ الرجال، أقل من 1 نانو جرام/مل =3.2 نانومول/ل.

خلايا الجزيرات:

الإنسولين: (المصل) 4-25 ميكرو وحدة /مل (29-181 بيكومول/ل).

الببتيد C (المصل) 0.9-4.2 نانو جرام/مل.

الجلوكاجون: المصل، على الريق 20-100 بيكو جرام/مل.

الدريقية:

تختلف مستويات الهرمون الدريقي حسب الطريقة والضد؛ وهي ترتبط بكالسيوم المصل.

النخامية:

هرمون النمو (GH): (المصل) البالغون، 1-10 نانو جرام/مل (46-465 بيكومول/ل) (بالمقايسة المناعية الشعاعية RIA).

الهرمون المنبه للدرقية (TSH) (المصل) أقل من 10 ميكرو وحدة/مل.

الهرمون المنبه للجريب (FSH): (المصل) قبل البلوغ، 2-12 مللي وحدة /مل؛ الرجال البالغون، 1-15 مللي وحدة/مل؛ النساء البالغات، 1-30 مللي وحدة /مل؛ بعد الإياس، 30-200 مللي وحدة/مل (بطريقة RIA).

الهرمون الملوتن (LH): (المصل) قبل البلوغ، 2-12 مللي وحدة/مل؛ الرجال البالغون، 1-15 مللي وحدة /مل؛ النساء البالغات، أقل من 30 مللي وحدة/مل؛ بعد الإياس، أكثر من 30 مللي وحدة/مل.

الموجهة القشرية (ACTH) (البلازما) 8-10 صباحاً، حتى 100 بيكو جرام/مل (22 بيكومول/ل).

البرولاكتين: (المصل) 1-25 نانو جرام/مل (0.4-10 نانومول/ل).

السوماتوميدين C: (البلازما) 0.4-2 وحدة /مل.

الهرمون المضاد للإدرار (ADH)، الڤازوبريسين: (البلازما) أسمولية المصل 285 ميلي أسمول/كيلو جرام، 0-2 بيكو جرام/مل؛ أكثر من 290 مللي أسمول/كيلو جرام، $2-12^{+}$ بيكو جرام / مل.

المشيمية:

الإستريول (E_3) (المصل) الرجال والنساء غير الحوامل، أقل من 0.2 ميكرو جرام/100 مل (أقل من 7 نانومول/ل/) (بطريقة المقايسة المناعية الإشعاعية RIA).

الموجهة التناسلية المشيمائية: (المصل) الوحيدة بيتا: الرجال، أقل من 9 مللي وحدة / مل؛ النساء الحوامل بعد الانغراس، أكثر من 10 مللي وحدة/100 مل.

المعدة:

الجاسترين: (المصل، إيداء خاص) حتى 100 بيكوجرام/مل (47 بيكومول/ل)؛ مرتفع: أكثر من 200 بيكوجرام/مل.

البِبسينوجين I: (المصل) 25-100 نانوجرام/مل.

الدرقية:

الثيروكسين الحر (FT_4): (المصل) 0.8-2.4 نانو جرام/100مل (10-30 بيكومول/ل).

الثيروكسين الإجمالي (TT_4): (المصل) 5-12 ميكرو جرام/100مل (65-156 نانومول/ل) (بطريقة ـ RIA).

سعة الجلوبولين الرابط للثيروكسين: (المصل) 12-28 ميكرو جرام T_4 100/ مل (150-360 نانومول T_4 100/ مل).

ثلاثي يودو الثـيـرونين (T_3): (المصل) 80-220 نانو جـرام/100 مل (1.2-3.3 نانومول/ل).

ثلاثي يودو الثـيـرونين العكسي (rT_3): (المصل) 30-80 نانو جـرام/100 مل (0.45-1.2 نانومول/ل).

قَبْط ثلاثي يودو الثيرونين (RT_3U): (المصل) 25-36٪؛ وكتقدير للجلوبين الرابط للثيروكسين TBG (نسبة RT_3U)، 0.85-1.15.

الكالسيتونين: (المصل) أقل من 100 بيكو جرام/مل (أقل من 29.2 بيكومول/ل).

اختبارات الوظيفة الكلوية:

تصفية p ـ أمينوهيبورات (PAH) (RPF): الرجال، 560-830 مل/دقيقة؛ النساء 490-700 مل/دقيقة.

تصفية الكرياتينين الداخلي المنشأ (GFR): تماثل تصفية الإينولين تقريباً (انظر لاحقاً).

الجزء الراشح (FF): الرجال، 17-21 ٪؛ النساء، 17-23 ٪ (RPF/ GFR = FF).

تصفية الإينولين (GFR): الرجال، 110-150 مل/دقيقة؛ النساء، 105-132 مل/دقيقة (تصحح إلى 1.73 م2 من مساحة سطح الجسم).

الأسمولية: الشخص يتناول غذاء عادياً ويستهلك سوائل عادية: المجال 500-850م. أسمول/كيلو جرام من الماء. المجال المنجز، الكلية سوية: تخفيف 40-80 ملي أسمول؛ التكثيف (التجفاف) حتى 1400 م. أسمول /كيلو جرام من الماء (3-4 أضعاف أسمولية البلازما على الأقل).

الكثافة النوعية للبول: 1.003-1.030.

بعض مواقع الإنترنت المفيدة:

تتألف القائمة التالية من مجموعة مواقع شبكة الإنترنت التي يمكن لأي شخص الوصول إليها وفي أي وقت. ورغم أن معظمها من الولايات المتحدة الأمريكية، لكن العديد منها يؤمن ارتباطات مع مواقع عالمية أخرى ومع قواعد البيانات (للاستعلام عن سَلسَلة البروتينات والأحماض النووية مثلاً) ومع دوريات علمية «على الهواء» On-line. ولمعظم مجلات البيولوجيا (كمجلة الكيمياء البيولوجية مثلاً) الآن مواقع على شبكة الإنترنت، وغالباً مع ارتباطات أخرى مفيدة؛ وبعض هذه المجلات يمكن الوصول إليها واستقاء ما تريده من معلومات منها بدون أي مقابل مادّي.

وسيكون روبرت ك. موراي RKM ممتناً إذا وجد القارئ مواقع أخرى مفيدة وأرسل له عنوانها على بريده الإلكتروني: rkmurray@home.com، بحيث يتمكن من إضافتها إلى الطبعات التالية من هذا الكتاب.

ولا بد من ملاحظة أن هذه العناوين URL قد تتغير أو تغيب تماماً عن الشبكة.

وفيما يلي قائمة بهذه المواقع المفيدة التي فضلنا أن نبقيها بلغتها الأصلية ليتمكن القارئ من الوصول إليها بشكل أيسر، ولأن الرجوع إليها يتطلب لغة أجنبية جيدة:

ACCESS TO THE BIOMEDICAL LITERATURE

* National Library of Medicine . (Free access to Medline via Pubmed and Internet Grateful Med.) http://www.nlm.nih.gov/

SITES LISTING GENERAL RESOURCES

* Pedro's Biomolecular Research Tools. (A collection of www links to information and services useful to molecular biologists).

  http://www.public.iastate.edu/~pedro/research-tools.htm1

* The World-Wide Web Virtual Library: Biosciences. (Lists many international sites and includes links for access to DNA and RNA

databases, protein sequences, etc.)

http://golgi.harvard.edu/biopages.html

SPECIFIC SITES MOST OF WHICH ALSO LIST OTHER USEFUL LINKS

*American Heart Association. (Contains much useful information on nutrition, on the role of various boimolecules [eg, cholesterol, lipoproteins] in heart disease, and on the major cardiovascular disease).

http://www.amhrt.org

* Cancer Genome Anatomy Project (CGAP). (An interdisciplinary program to establish the information and technology required in order to determine the molecular anatomy of a cancer cell.)

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/CGAP/

* European Bioinformatics Institute. (Maintains the EMBL and SWISS-Prot databases as well as other databases).

http://www.ebi.ac.uk/ebi-home.html

* Genes and Disease. (Interesting coverage of the genetic basis of approximately 60 diseases; complements the Human Gene Map of 1998.)

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/disease/

* Human Gene Map ‘98.(Documents the recent comprehensive human genemap. See Chapter 63 of this text).

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genemap98/

* The Human Gene Mutation Database (at the Institute of Medical Genetics

in Cardiff, Wales).(An extensive tabulation of mutations in human genes).

http://www.uwcm.ac.uk/uwcm/mg/hgmd0.html

* Human Genome project Information. (From the Human Genome Program of the United States Department of Energy).

http://www.ornl.gov/hgmis

*The Institute for Genetic Research. (Includes sequences of various bacterial genomes and information on current human genome sequencing).

http://www.tigr.org

* Karolinska Institute: Nutritional and Metabolic Disease (Comprehensive access to information on many nutritional and metabolic disorders).

http://www.mic.ki.se/Diseases/c18.html

* Medical Research Council (UK) Glycoprotein Structure/Function Group. (Describes work in progress by the Group and offers a useful list of links to other sites covering the chemistry and biology of carbohydrates).

http://www.biochem.ucl.ac.uk/bsm/gpg/

* MITOMAP v3.1. (A human mitochondrial genome database).

http://www.gen.emory.edu/mitomap.html

* National Center for Biotechnology Information. (Includes access to GenBank Sequence Database [the NIH sequence database, an annotated version of all publicly available DNA sequences] and many other resources. The Entrez search system is widely used for accessing genome sequences).

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/

* National Human Genome Research Institute. (Contains information about the Human Genome Project. Lists genomic and genetic resources available on the Web and provides access to the major protein and nucleic acid databases).

http://www.nhgri.nih.gov/

* National Institutes of Health. (Includes links to the 25 separate Institutes and Centers. Covering a wide range of biomedical research).

http://www.nih.gov

* Neuroscience (Biosciences): A component of the Wold-Wide web virtual library (A comprehensive list of neuroscience resources).

http://neuro.med.cornell.edu/VL/

* Office of Rare Diseases (Affords access to information on more than 6000 rare diseases. Including current research).

http://rarediseases.info.nih.gov/ord

* OMIM Home Page Online Mendelian Inheritance in Man. (An extensive catalog of human genetic disorders, updated daily. Lists access to various allied resources.)

http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/omim/

* Protein Data Bank: Brookhaven National Laboratory. (An archive of experimentally determined 3-D structures of biologic macromolecules. This site is in the process of being transferred to the Research Collaboratory for Structural Bioinformatics [RCSB]).

http://www.pdb.bnl.gov/

http://www.resb.org/pbd/index.html

* Protein Kinase Resource. (Compendium of information on the protein kinase family of enzymes).

  http://www.sdsc.edu/kinases/

* The Sanger Centre Web Srever. (A genome research centre whose purpose is to increase knowledge of genomes, particularly through large-scale sequencing and analysis. Contains information on the completely sequenced genome of *C. elegans*.)

  http://www.sanger.ac.uk

* Society for Endocrinology. (Aims to promote advancement of public education in endocrinology. Contains a list of links to other relevant sites).

  http://www.endocrinology.org/

* TBASE: The Transgenic/Targeted Mutation Database at the Jackson Laboratory. Bar Harbor, Maine. (An attempt to organize information on transgenic animals and targeted mutations generated and analyzed worldwide).

http://www.jax.org/tbase.

*Web Resources for Protein Scientists. (List of protein and general biologic WWW resources).

  http://faseb.org/protein/ProSciDocs

  WWW resources.html

* Whitehead Institute for Biomedical Research/MIT Center for Genome Research. (Access to various databases and a section on Internet resources for molecular biologists and protein chemists).

  http://www.genome.wi.mit.edu/

المختصرات

المختصر الإنجليزي	المعنى باللغة الإنجليزية	المعنى باللغة العربية
A (Å)	Angstrom unit (s) (10^{-10}m ; 0.1nm)	وحدة الأنجستروم (10^{-10} متر، 0.1 نانومتر)
AA	Amino Acid	حمض أميني
α-AA	Alpha amino acid	حمض أميني – ألفا
ABP	Androgen binding protein	البروتين الرابط للأندروجين
ACAT	Acyl-CoA : cholesterol acyltransferase	ناقلة الأسيل من أسيل التميم A للكوليسترول
ACE	Angiotensin-converting enzyme	الإنزيم المحوّل للأنجيوتنسين
ACh	Acetyl choline	أسيتيل الكولين
AChR	Acetyl choline receptor	مستقبلُ أسيتيل الكولين
ACP	Acyl carrier protein	البروتين الحامل للأسيل
ACTH	Adrenocorticotropic hormone, Adrenocorticotropin, corticotropin	الهرمون الموجه لقشر الكظر، موجِّهة قشر الكظر، الموجِّهة القشرية
Acyl-CoA	Acyl derivative of coenzyme A (eg, butyryl CoA)	مشتق أسيلي لتميم الإنزيم A (مثال: بوتيريل التميم A)
ADH	Alcohol dehydrogenase	نازعة هيدروجين الكحول
ADH	Antidiuretic hormone (Vasopressin)	الهرمون المضاد لإدرار البول (الڤازوبريسين)
ADP	Adenosine diphosphate	ثنائي فسفات الأدينوزين
Ala	Alanine	الألانين
ALA	Aminolevulinic acid	حمض الأمينوليڤولينيك
ALT	Alanine aminotransferase	ناقلة أمين الألانين

المختصر الإنجليزي	المعنى باللغة الإنجليزية	المعنى باللغة العربية
AMP	Adenosine monophosphate	أحادي فسفات الأدينوزين
ANF	Atrial natriuretic factor	العامل الأذيني المُدرّ للصوديوم
APTT	Activated PTT	زمن الثرومبوبلاستين الجزئي المُنَشَّط
Arg	Arginine	الأرجينين
Asn	Asparagine	الأسباراجين
Asp	Aspartic acid	حمض الأسبارتيك
AST	Aspartate aminotransferase	ناقلة أمين الأسبارتات
ATP	Adenosine triphosphate	ثلاثي فسفات الأدينوزين
BAL	Dimercaprol (British anti-Lewisite)	الديميركابرول (مضاد اللويسيت الإنجليزي)
BLI	Bombesin-like immunoreactivity	النشاط المناعي التفاعلي الشبيه بالبُمبيسين
BPG	Bisphosphoglycerate (Diphosphoglycerate)	بيس فسفوجليسرات (ثنائي فسفو الجليسرات)
cAMP	3/ , 5/ - cyclic adinosine monophosphate (cyclic AMP)	3´، 5´ – أحادي فسفات الأدينوزين الحلقي، الأمب الحلقي
CBG	Corticosteroid-binding globulin	الجلوبولين الرابط للكورتيكوستيرويد
CBP	Calcium-binding protein	البروتين الرابط للكالسيوم
CCCP	m-Chlorocarbonyl cyanide phenylhydrazone	m– كلوروكربونيل سيانيد الفينيل هيدرازون
CCK	Cholecystokinin	الكولي سيستوكينين
CDP	Cytidine diphosphate	ثنائي فسفات السيتيدين

المختصر الإنجليزي	المعنى باللغة الإنجليزية	المعنى باللغة العربية
Cer	Ceramide	السيراميد
cGMP	3´,5´ -cyclic guanosine monophosphate (cyclic GMP)	3´، 5´ – أحادي فسفات الجوانوزين الحلقي (الجمب الحلقي)
CLIP	Corticotropin-like intermediate lobe peptide	ببتيد الفص المتوسط الشبيه بالموجهة القشرية
CMP	Cytidine monophosphate ; 5´ -phosphorybosil cytosine	أحادي فسفات السيتيدين؛ 5´ – فسفوريبوزيل السيتوزين
CoA	Coenzyme A	تميم الإنزيم A
CoA-SH	Free (uncombined) Coenzyme A. A pantothenic acid containing nucleotide that functions in the metabolism of fatty acids, ketone bodies, acetate, and amino acids	تميم الإنزيم A الحر (غير المرتبط). وهو حمض البانتوثينيك المحتوي على نوكليوتيد ويعمل في أيض الأحماض الدهنية والأجسام الكيتونية والأسيتات والأحماض الأمينية
$CoA\text{-}S\text{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}\text{-}CH_3$	Acetyl-CoA, “activated acetate”. The form in which acetate is “activated” by combination with coenzyme A for participation in various reactions	أسيتيل التميم A، «الأسيتات المنشّطة». وتكون الأسيتات في هذا الشكل «منشَّطة» بالارتباط مع تميم الإنزيم A للمساهمة في التفاعلات المختلفة.
COMT	Catechol-O-methyltransferase	ناقلة الميثيل لأوكسي الكاتيكول
CPK	Creatine phosphokinase	فسفوكيناز الكرياتين
CRH	Corticotropion - releasing hormone	الهرمون المُطلِق للموجهة القشرية

المختصر الإنجليزي	المعنى باللغة الإنجليزية	المعنى باللغة العربية
CRP	C-reactive protein	البروتين المتفاعل C
CT	Calcitonin	الكالسيتونين
CTP	Cytidine triphosphate	ثلاثي فسفات السيتيدين
Cys	Cysteine	السيستيين
D-	Dextrorotatory	مُيَمِّن
D_2 (vitamin)	Ergocalciferol	إرجو كالسيفرول
D_3 (vitamin)	Cholicalciferol	كولي كالسيفرول
1,25 $(OH)_2$-D_3	1,25-Dihydroxy cholecalciferol	1، 25 – ثنائي هيدروكسي كولي كالسيفرول
dA	Deoxyadenosine	ديوكسي الأدينوزين
DAG	Diacylglycerol	ثنائي أسيل الجليسرول
dATP	Deoxyadenosine triphosphate	ثلاثي فسفات ديوكسي الأدينوزين
DBH	Dopamine β-hydroxylase	بيتا هيدروكسيلاز الدوبامين
dC	Deoxycytosine	ديوكسي السيتوزين
dG	Deoxyguanosine	ديوكسي الجوانوزين
DHEA	Dehydroepiandrosterone	ديهيدرو إيبي أندروستيرون
DHT	Dihydrotestosterone	ثنائي هيدروتستوستيرون
DIT	Diiodotyrosine	ثنائي يودوتِيروزين
DNA	Deoxyribonucleic acid	الدنا: الحمض النووي الريبي منزوع (منقوص) الأكسجين
DNP	Dinitrophenol	ثنائي نتروفِينول
DOC	Deoxycorticosterone	ديُوكسي كورتيكوستيرون
Dopa	3,4-dihydroxyphenylalanine	4،3 – ثنائي هيدروكسي الفينيل ألانين
DPG	Diphosphoglycerate	ثنائي فسفو الجليسرات (بيس

المختصر الإنجليزي	المعنى باللغة الإنجليزية	المعنى باللغة العربية
	(bisphosphoglycerate)	فسفو الجليسرات)
dpm	Disintegration per minute	التفكك بالدقيقة
dT	Deoxythymidine	ديُوكسي الثيميدين
dTMP	Deoxythymidine 5´ - monophosphate	5 – أحادي فسفات ديوكسي الثيميدين
dUMP	Deoxyribose uridine 5´ - phosphate	5 – فسفات ديوكسي ريبوز اليوريدين
E	Enzyme (also Enz)	إنزيم (يُرمز له أيضاً بالرمز (Enz)
E_2	Estradiol	إيستراديول
E.C.	Enzyme commission number (IUB) system	نظام الترقيم الإنزيمي الدولي
ECF	Extracellular fluid	السائل خارج الخلوي
ECM	Extracellular matrix	المَطرس خارج الخلوي
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid. A reagent used to chelate divalent metals	حمض إيثيلين ثنائي أمين رباعي الأسيتيك. وهو كاشف يُستخدم في خلْب المعادن ثنائية التكافؤ
EGF	Epidermal growth factor	عامل النمو البَشروي
Enz	Enzyme (also E)	إنزيم (E أيضاً)
Eq	Equivalent	مكافئ
Eu	Enzyme unit	وحدة إنزيمية
FAD	Flavin adenine dinucleotide (oxidized)	ثنائي نوكليوتيد الفلاڤين والأدينين (مؤكسَد)
$FADH_2$	Flavin adenine dinucleotide (reduced)	ثنائي نوكليوتيد الفلاڤين والأدينين مختزل
FDA	Food & Drug Administration	إدارة الغذاء والدواء

المختصر الإنجليزي	المعنى باللغة الإنجليزية	المعنى باللغة العربية
FFA	Free fatty acids	الأحماض الدهنية الحرة
FGF	Fibroblast growth factor	عامل نمو الأرومات الليفية
Figlu	Formiminoglutamic acid	حمض الفورميمينوجلوتاميك
FMN	Flavin mononucleotide	أحادي نوكليوتيد الفلاڤين
FP	Flavoprotein	البروتين الفلاڤيني (فلاڤوبروتين)
FSF	Fibrin stabilizing factor	عامل تثبيت الفِبرين
FSH	Follicle - stimulating hormone	الهرمون المُنبّه للجُريب
FSHRH	Follicle - stimulating hormone - releasing hormone	الهرمون المُطلِق للهرمون المُنبّه للجُريب
g	Gram(s)	جرام
g	Gravity	ثِقل
GAG	Glycosaminoglycan	جليكوز أمينُوجليكان
Gal	Galactose	جالاكتوز
GalNAc	N-acetyl galactosamine	N – أسيتيل جالاكتوزامين
GAP	GnRH - associated peptide	الببتيد المرتبط بالهرمون المُطلِق لموجِّهة الغدد التناسلية
GDP	Guanosine diphosphate	ثنائي فسفات الجوانوزين
GFR	Glomerular filtration rate	معدل الترشيح الكُبَيبي
GH	Growth hormone	هرمون النمو
GHRH	Growth hormone-releasing hormone	الهرمون المُطلِق لهرمون النمو
GHRIH	Growth hormone-releasing inhibiting hormone (somatostation)	الهرمون المثبط لإطلاق هرمون النمو (السوماتوستاتين)
GIP	Gastric inhibitory polypeptide	عديد الببتيد المعدي المُثبِّط
GLC	Gas-liquid chromatography	استشراب غازي سائلي

المختصر الإنجليزي	المعنى باللغة الإنجليزية	المعنى باللغة العربية
Glc	Glucose	جلوكوز
GlcNAc	N-acetyl glucosamine	N-أسيتيل الجلوكوزامين
GlcUA	Glucuronic acid	حمض الجلوكورونيك
Gln	Glutamine	الجلوتامين
Glu	Glutamic acid	حمض الجلوتاميك
Gly	Glycine	الجليسين
GMP	Guanosine monophosphate	أحادي فسفات الجوانوزين
GnRH	Gonadotropin-releasing hormone	الهرمون المطلق لموجِّهة الغدد التناسلية
GRE	Glucocorticoid response element	عنصر الاستجابة للقشرانيات السكرية
GTP	Guanosine triphosphate	ثلاثي فسفات الجوانوزين
Hb	Hemoglobin	الهيموجلوبين
hCG	Human chorionic gonadotropin	موجِّهة الغدد التناسلية المشيمائية البشرية
hCS	Human chorionic somatomammotrpin	الموجِّهة الجسدية الثدييّة المشيمائية البشرية
HDL	High-density lipoprotein	البروتين الشحمي مرتفع الكثافة
H_2folate	Dihydrofolate	ثنائي هيدرو الفولات
H_4folate	Tetrahydrofolate	رباعي هيدرو الفولات
hGH	Human growth hormone	هرمون النمو البشري
His	Histidine	الهيستيدين
HMG-CoA	3-hydroxy - 3- methyl glutaryl CoA	3–هيدروكسي– 3– ميثيل جلوتاريل التميم A
Hyl	Hydroxylysine	هيدروكسي الليسين
Hyp	4-Hydroxyproline	4 – هيدروكسي البرولين

المختصر الإنجليزي	المعنى باللغة الإنجليزية	المعنى باللغة العربية
ICD	Isocitric dehydrogenase	نازعة هيدروجين الإيزوسيتريك
IDL	Intermediate-density lipoprotein	البروتين الشحمي متوسط الكثافة
IDP	Inosine diphosphate	ثنائي فسفات الإينوزين
IF	Initiation factor (for protein synthesis)	عامل ابتداء (في التخليق البروتيني)
IFN	Interferon	الإنترفيرون
IGF	Insulin-like growth factor	عامل النمو الشبيه بالأنسولين
IL	Interleukin	الإنترلوكين
Ile	Isoleucine	الإيزولوسين
IMP	Inosine monophosphate; hypoxanthine ribonucleotide	أحادي فسفات الإينوزين؛ النوكليوتيد الريبي الهيبوزانثيني
INH	Isonicotinic acid hydrazide (isoniazid)	هيدرازيد حمض الإيزونيكوتينيك (الإيزونيازيد)
IP_3	Inositol trisphosphate	ثلاثي فسفات الإينوزيتول
ITP	Inosine triphosphate	ثلاثي فسفات الإينوزين
IU	International unit(s)	وحدة دولية
IUB	International Union of Biochemistry	الاتحاد الدولي للكيمياء الحيوية
α-KA	α-Keto acid	حمض كيتوني ـ ألفا
kcal	Kilocalorie	كيلو كالوري
α-KG	α-Ketoglutarate	ألفا ـ كيتو جلوتارات
kJ	Kilojoule	كيلو جول
K_m	Substrate concentration producing half-maximal	تركيز الركيزة المنتج لنصف السرعة الأعظمية (ثابتة

المختصر الإنجليزي	المعنى باللغة الإنجليزية	المعنى باللغة العربية
	velocity (Michaelis constant)	ميخائيليس)
L-	Levorotatory	مُيَسِّر
LCAT	Lecithin : cholesterol acyltransferase	ناقلة أسيل اللِّيستَين للكوليسترول
LDH	Lactate dehydrogenase	نازعة هيدروجين اللاكتات
LDL	Low-density lipoprotein	البروتين الشحمي منخفض الكثافة
Leu	Leucine	اللوسين
LH	Luteinizing hormone	الهرمون الملوتن
LHRH	Luteinizing hormone - releasing hormone	الهرمون المُطلِق للهرمون المُلوتِن
LPH	Lipotropin	موجِّهة الشحم
LTH	Luteotropic hormone	الهرمون الموجِّه للجسم الأصفر
Lys	Lysine	الليسين
M	Molar	موليّ
MAO	Monoamine oxidase	أكسيداز أحاديات الأمين
MCH	Mean corpuscular hemoglobin	هيموجلوبين الكريات الوسطي
MCHC	Mean corpuscular hemoglobin concentration	تركيز هيموجلوبين الكريات الوسطي
MCV	Mean corpuscular volume	الحجم الكروي الوسطي
Met	Methionine	الميثيونين
MIF	Müllerian inhibiting factor	العامل الموللري المثبط
MIT	Monoiodotyrosine	أحادي يود التيروزين
Mol	Mole (s)	مول
M_r	Relative molecular mass	الكتلة الجزيئية النسبية
MRF	Melanocyte-releasing factor	العامل المُطلِق للخلايا الميلانية

المختصر الإنجليزي	المعنى باللغة الإنجليزية	المعنى باللغة العربية
MRH	Melanocyte-releasing hormone	الهـــرمـــون المُطلِق للخــلايا الميلانية
MRIH	Melanocyte-releasing inhibiting hormone	الهرمون المثبط لإطلاق الخلايا الميلانية
mRNA	Messenger RNA	الرنا (RNA) المرسال
MSA	Multiplication-stimulating activity	النشاط المنبه للتضاعف
MSH	Melanocyte - stimulating hormone	الهرمون المنبه للخلايا الميلانية
MW	Molecular weight	الوزن الجزيئي
NAD^+	Nicotinamide adenine dinucleotide (oxidized)	ثنائي نوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين (مؤكسَد)
NADH	Nicotinamide adenine dinucleotide (reduced)	ثنائي نوكليوتيد النيكوتيناميد والأدينين (مختزل)
$NADP^+$	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (oxidized)	فـسـفـات ثنائي نوكليـوتيـد النيكوتينامـــيـــد والأدينين (مؤكسَد)
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced)	فـسـفـات ثنائي نوكليـوتيـد النيكوتينامـــيـــد والأدينين (مُختزل)
NDP	(Any) nucleoside diphosphate	(أي) ثنائي فسفات نوكليوزيد
NeuAc	N-Acetylneuraminic acid	حـــمض N– أســـيـــتـــيل النورامينيك
NGF	Nerve growth factor	عامل النّمو العصبي
NTP	(Any) nucleoside triphosphate	(أي) ثلاثي فسفات نوكليوزيد
OA	Oxaloacetic acid	حمض الأكسالوآسيتيك
OD	Optical density	الكثافة البصرية

المختصر الإنجليزي	المعنى باللغة الإنجليزية	المعنى باللغة العربية
3β-OHSD	3β-hydroxysteroid dehydrogenase	نازعة هيدروجين 3 بيتا – هيدروكسي الستيرويد
Pi	Inorganic phosphate (orthophosphate)	الفسفات اللاعضوية (الأورثوفسفات)
PCR	Polymerase chain reaction	تفاعل البوليميراز السِّلسِلِي
PCV	Packed cell volume	حجم الكريّات المَكْدوسَة
PDGF	Platelet-derived growth factor	عامل النمو المشتق من الصفيحات
PEPCK	Phosphoenolpyruvate carboxykinase	كربوكسي كيناز الفسفو إينول بيروڤات
PFK	Phosphofructokinase	فُسفُوفركتُوكِيناز
PG	Prostaglandin	بروستاجلاندين
Phe	Phenyl alanine	فينيل ألانين
PIH	Prolactin release-inhibiting hormone	الهرمون المثبِّط لإطلاق البرولاكتين
PL	Placental lactogen	محفِّز الإلبان المشيمي
PL	Pyridoxal	البَيْريدُوكْسال
PLP	Pyridoxal phosphate	فسفات البَيْريدُوكْسال
PNMT	Phenylethanolamine -N-methyltransferase	ناقلة الميثيل للنيتروجين في فينيل الإيثانولامين
PNPA	p-Nitrophenylate anion	أنيون p– نتروفينيلات
POMC	Pro-opiomelanocortin	طليعة الكورتين الميلاني الأفيوني
PP	Pancreatic polypeptide	عديد الببتيد البنكرياسي
PPi	Inorganic pyrophosphate	البَيروفسفات اللاعضوية
PRH	Prolactin releasing hormone	الهرمون المُطلِق للبرولاكتين
PRIH	Prolactin release-inhibiting	الهرمون المثبط لإطلاق

المختصر الإنجليزي	المعنى باللغة الإنجليزية	المعنى باللغة العربية
	hormone	البرولاكتين
PRL	Prolactin	البرولاكتين
Pro	Proline	البرولين
PRPP	5-Phosphoribosyl-1 -pyrophosphate	5 – فسفو ريبوزيل 1 بيروفسفات
PT	Prothrombin time	زمن البروثرومبين
PTA	Plasma thromboplastin antecedent	طليعة الثرومبوبلاستين البلازمي
PTC	Plasma thromboplastin component	المكوِّن الثرومبوبلاستيني البلازمي
PTH	Parathyroid hormone	الهرمون الدُّريقي
PTT	Partial thromboplastin time	زمن الثرومبوبلاستين الجزئي
RBC	Red blood cell	كرية الدم الحمراء
RDA	Recommended daily allowance	المُخصَّص اليومي المُحَبَّذ
RE	Retinol equivalent	مكافئات الريتينول
RFLP	Restriction fragment length polymorphism	تَعَدُّدُ أشكال أطوالُ الشُّدف الحصرية
RNA	Ribonucleic acid	الرنا: الحمض النووي الريبي
RQ	Respiratory quotient	الحاصل التنفسي
rRNA	Ribosomal RNA	الرنا الريباسي
S	Svedberg units of sedimentation	وحدة سفيدبرج للتثفل
SDA	Specific dynamic action	الفعل الديناميكي النوعي
SDS	Sodium dodecyl sulfate	سلفات دوديسيل الصوديوم
Ser	Serine	السيرين
SGOT	Serum glutamic-oxaloacetic	ناقلة أمين الجلوتاميك

المختصر الإنجليزي	المعنى باللغة الإنجليزية	المعنى باللغة العربية
	transaminase	للأكسالوأسيتيك المصلية
SGPT	Serum glutamic-pyruvic transaminase	ناقلة أمين الجلوتاميك للبيروڤيك المصلية
SH	Sulfhydryl	سلفهيدريل
SHBG	Sex hormone-binding globulin	الجلوبولين الرابط للهرمونات الجنسية
SLR	Streptococcus lactis R	العقدية اللبنية R
snRNA	Small nuclear RNA	الرنا (RNA) النووي الصغير
SRIH	Somatostatin (growth hormone release inhibiting hormone)	السوماتوستاتين (الهرمون المثبط لإطلاق هرمون النمو)
STP	Standard temperature and pressure (273° absolute, 760 mm Hg)	الضغط ودرجة الحرارة المعياريان (273° مطلقة، 760 مم.ز)
T3	Triiodothyronine	ثلاثي يودوثيرونين
T4	Tetraiodothyronine; thyroxine	رباعي يودوتيرونين، ثيروكسين
TBG	Thyroxine-binding globulin	الجلوبولين الرابط للثيروكسين
TBPA	Thyroxine-binding prealbumin	سابق الألبومين الرابط للثيروكسين
TEBG	Testosterone-estrogen binding globulin	الجلوبولين الرابط للتستوستيرون والإستروجين
TG	Triacylglycerol (formerly called triglyceride)	ثلاثي أسيل الجليسيرول (كان يدعى سابقاً ثلاثي الجليسيريد)
TGF	Transforming growth factor	عامل النمو المُحوّل
Thr	Threonine	الثريونين
TLC	Thin-layer chromatography	الاستشراب على الطبقة الرقيقة

المختصر الإنجليزي	المعنى باللغة الإنجليزية	المعنى باللغة العربية
TmCa	Tubular maximum for calcium	المقـدار النبـيـبي الأعظمي للكالسيوم
TmG	Tubular maximum for glucose	المقـدار النبـيـبي الأعظمي للجلوكوز
TMP	Thymidine monophosphate	أحادي فسفات الثيميدين
TNF	Tumor necrosis factor	عامل نَخر الورم
t-PA	Tissue plasminogen activator	منشط مولّد البلازمين النسيجي
TRH	Thyrotropin releasing hormone	الهـرمـون المُطلِق للمـوجـهـة الدرقية
Tris	Tris (hydroxymethyl) aminomethane, a buffer	ثلاثي (هـيـدروكسـي مـيـثـيل) أمينوميثان: دارئة
tRNA	Transfer RNA	الرنا (RNA) النقّال
Trp	Tryptophan	التريبتوفان
TSH	Thyroid stimulating hormone; thyrotropin	الهرمون المنبه للدرقية، الموجهة الدرقية
TTP	Thymidine triphosphate	ثلاثي فسفات الثيميدين
Tyr	Tyrosine	التيروزين
UDP	Uridine diphosphate	ثنائي فسفات اليوريدين
UDP-Gal	Uridine diphosphate galactose	جـالاكـتـوز ثنائي فـسـفـات اليوريدين
UDP-Glc	Uridine diphosphate glucose	جلوكـوز ثنائي فـسـفـات اليوريدين
UDP-GlcUA	Uridine diphosphoglucuronic acid	حـمض جلوكـورونيك ثنائي فسفو اليوريدين
UDP-Gluc	Uridine diphosphoglucuronic acid	حـمض جلوكـورونيك ثنائي فسفو اليوريدين

المختصر الإنجليزي	المعنى باللغة الإنجليزية	المعنى باللغة العربية
UMP	Uridine monophosphate; Uridine -5´- phosphate; uridylic acid	أحادي فسفات اليوريدين؛ اليوريدين´ 5 فسفات، حمض اليوريديليك
UTP	Uridine triphosphate	ثلاثي فسفات اليوريدين
Val	Valine	الفالين
Vmax	Maximal velocity	السرعة الأعظمية
VHDL	Very high density lipoprotein	البروتين الشحمي مرتفع الكثافة جداً
VIP	Vasoactive intestinal polypeptide	عديد الببتيد المعوي الفعال في الأوعية
VLDL	Very low density lipoprotein	البروتين الشحمي وضيع الكثافة
VMA	Vanillylmandelic acid	حمض الفانيليل مانديليك
VNTR	Variable number of tandem repeats	العدد المتغير للتكرارات الترادفية
Vol%	Volumes percent	النسبة المئوية للأحجام

المحتويات